UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(Área de Zoologia)

MEDIADORES COMPORTAMENTAIS E COMUNICAÇÃO QUÍMICA DA VESPA EUSSOCIAL BASAL *Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga* VON IHERING, 1903 (HYMENOPTERA, VESPIDAE, MISCHOCYTTARINI)

ANDRÉ SUNAO NISHIUCHI MURAKAMI

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em em Ciências Biológicas.

Março - 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

MEDIADORES COMPORTAMENTAIS E COMUNICAÇÃO QUÍMICA DA VESPA EUSSOCIAL BASAL *Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga* VON IHERING, 1903 (HYMENOPTERA, VESPIDAE, MISCHOCYTTARINI)

ANDRÉ SUNAO NISHIUCHI MURAKAMI

Orientadora: Profa. Dra. SULENE NORIKO SHIMA

Co-orientador: Dr. SIDNEI MATEUS

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em em Ciências Biológicas.

Março - 2012

595.798 Murakami, André Sunao Nishiuchi
M972m Mediadores comportamentais e comunicação química da vespas eussocial basal Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga Von Ihering, 1903 (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini) / André Sunao Nishiuchi Murakami. - Rio Claro : [s.n.], 2012
215 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Sulene Noriko Shima
Co-Orientador: Sidnei Mateus

1. Vespa. 2. Organização social. 3. Fundação independente. 4. Morfofisiologia. 5. Cromatografia gasosa. 6. Espectrometria de massa. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS ii
RESUMO 6
ABSTRACT 9
INTRODUÇÃO 12
Tribo Mischocyttarini 12
Hierarquia social 14
Morfofisiologia colonial 15
Comunicação química através dos hidrocarbonetos cuticulares 18
Justificativas 21
OBJETIVO 27
MATERIAIS E MÉTODOS 30
Identificação das fases do desenvolvimento colonial 31
RESULTADOS 48
Estudo comportamental da organização social em *M. cassununga* 48
Análise morfofisiológica das fêmeas de *Mischocyttarus cassununga* 71
Estudo dos hidrocarbonetos cuticulares em *Mischocyttarus cassununga* 76
DISCUSSÃO 144
Hierarquia social de dominância em *Mischocyttarus cassununga* 144
Aspectos comportamentais da divisão de trabalho em *Mischocyttarus cassununga* . 146
Análise geral do perfil cuticular das fêmeas de *Mischocyttarus cassununga* 150
Análise do perfil cuticular das fêmeas nas colônias de *Mischocyttarus cassununga*. 153
Análise do perfil cuticular das fêmeas de acordo com status social na ontogenia colonial em *Mischocyttarus cassununga*, considerando a hierarquia social, os aspectos comportamentais e os parâmetros morfofisiológicos 157
CONCLUSÕES 175
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 180
APÊNDICE 195

À minha querida família,

a minha vivência,

meu aprendizado,

meu esforço,

e todo o meu amor

Dedico

AGRADECIMENTOS

O aprendizado é uma constante cercada pelas inconstâncias da vida...onde o aprender a agradecer talvez seja a forma mais bela de agradecimento. Dessa forma, nem mais nem menos, eu agradeço profundamente...

À minha orientadora, Profa. Dra. Sulene Noriko Shima, pelo exemplo de profissionalismo e ética dentro da área acadêmica e científica;

Ao meu co-orientador, Dr. Sidnei Mateus, pelo apoio e incentivo neste trabalho;

À CAPES, pelo financiamento desta pesquisa;

Ao meu colega, Túlio Nunes, que me acolheu em Ribeirão Preto e me ensinou muito sobre a magia dos hidrocarbonetos cuticulares;

Ao meu amigo, Ivan César Desuó, que me auxiliou e colaborou muito nas análises estatísticas;

Aos meus amigos, Guilherme Gomes, Lye Otani, Akio Miyoshi, Vanessa Cristina de Oliveira e Vanderlei Conceição Costa Filho, pela preocupação, carinho e amizade eterna;

Aos meus colegas, amigos e professores do Programa de pós-graduação em Zoologia do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro, pela vivência e companheirismo diários;

Às famílias Desjardins e Brienza (Valéria Desjardins Brienza, Hernani Brienza, Bruna Desjardins Brienza e Maurício Desjardins), pelo respeito, admiração e educação de sempre;

Às famílias Nishiuchi e Murakami (Taeko Nishiuchi, Seishi Nishiuchi, Elizabeth Eiko Nishiuchi, Ubirajara Nishiuchi, Seiro Nishiuchi, Tsuruko Murakami, Taro Murakami, Eiko Murakami Ienaga, Sérgio Ienaga, Rubens Murakami Ienaga, Edson Murakami Ienaga e demais entes queridos), pela união e pela admiração constantes;

À minha querida família (Minha mãe Kiyoko Nishiuchi Murakami, meu pai Sussumu Murakami, minha irmã Tatiana Hitomi Murakami e minha noiva Paula Desjardins Brienza), por tudo aquilo que representa o ato mais nobre de um ser humano, e pode, simplesmente, ser traduzido em poucas palavras...amor em tudo o que se faz!

RESUMO

Resumo

Mischocyttarus cassununga é uma vespa eussocial basal ou de fundação independente, endêmica de região neotropical e que apresenta características particulares na organização social e outros aspectos bionômicos relacionados às castas comportamentais. O objetivo do trabalho foi investigar a importância dos hidrocarbonetos cuticulares na comunicação química de uma população dessa espécie. Através de observações comportamentais, verificação do estado morfofisiológico (dissecção) e análise química (Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa) foi possível estudar a relação entre o perfil químico do indivíduo e seu status social na colônia. Os resultados mostraram a presença de um grande número de compostos cuticulares (88 substâncias), de cadeia longa que variaram de 16 a 36 átomos de carbono. Dentre estes compostos que puderam ser detectados e identificados, os predominantes foram os alcanos ramificados (metilalcanos e dimetilalcanos), seguidos pelos alcanos lineares e etilalcanos, o que sugere uma alta complexidade dos hidrocarbonetos na espécie em estudo. Os hidrocarbonetos encontrados nos perfis cuticulares das fêmeas estudadas aparentemente apresentam uma função colônia-específica, assim como

provavelmente devem estar sinalizando o estado reprodutivo do indivíduos na colônia. As análises realizadas de diversas maneiras também mostraram que os parâmetros tais como inseminação e desenvolvimento ovariano provavelmente justificam melhor as diferenças nas proporções de determinadas substâncias no perfil cuticular dentro da organização social de *Mischocyttarus cassununga*. Analisar as possíveis diferenças dos perfis cuticulares considerando a influência conjunta de todos parâmetros fisiológicos também possibilita o entendimento da função química dos hidrocarbonetos, assim como aproxima mais a situação de estudo da realidade, uma vez que controlar tais variáveis fisiológicas é uma tarefa difícil ou quase impossível. Além disso, pouco se sabe sobre como os insetos sociais percebem as diferenças destes compostos. Conclusivamente, embora o trabalho apresente fortes indícios da utilização dos hidrocarbonetos cuticulares na espécie estudada, somente através de estudos futuros poderemos comprovar o seu papel como sinalizador do status da fêmea na organização social da colônia.

ABSTRACT

Abstract

Mischocyttarus cassununga is a eusocial basal wasp with independent foundation from Neotropical areas, and which displays peculiar characteristics about the social organization and other bionomic aspects related to behavioral castes. In this study, we investigated the importance of cuticular hydrocarbons in the chemical communication for one population of this species. through behavioural observation, morphophysiological verification and chemical analysis (Gas Chromatography - Mass Spectrometry = GC MS) it was possible to study the relation between the cuticular profile of the individuals and their social status in colony. The results showed the presence of a large number of long-chain cuticular compouds (88 substances) ranging from 16 to 36 carbon atoms. Among the compounds which were found, the predominant were branched alkanes (methylalkanes and dimethylalkanes), followed by linear alkanes and ethylalkanes, suggesting a complex mixtures of hydrocarbon. The cuticular hydrocarbon profile of females showed a colony-specific function, and should probably signal the reproductive status of individuals in the colony. The analysis that was carried out in various ways, also showed that parameters such as insemination and ovarian development are

probably explaining better the differences in the proportions of certain substances in the cuticular profile within the social organization of *Mischocyttarus cassununga*. To analyze the possible differences of cuticular profiles, considering the combined influence of all physiological parameters, also allows understanding the function of hydrocarbon chemistry, as well as closer study of the situation in reality, since control such physiological variables is difficult or almost impossible. Furthermore, little is known about how social insects perceive the differences of these compounds. Conclusively, although this work presents strong evidence of the use of cuticular hydrocarbons in this species, only through future studies we can confirm its role as an indicator of individual status in the social organization of the colony.

INTRODUÇÃO

Introdução

1.1. Tribo Mischocyttarini

Mischocyttarus cassununga é uma vespa de fundação independente pertencente à tribo Mischocyttarini (CARPENTER, 1993), a qual encontra-se representada somente pelo gênero *Mischocyttarus*. Este é o maior grupo de vespas sociais com 245 espécies nominais atualmente reconhecidas em nove subgêneros (SILVEIRA, 2000, 2008), e encontram-se distribuídas quase que exclusivamente na América do Sul (RICHARDS, 1978). Apenas duas espécies ocorrem no sul e oeste da América do Norte (GADAGKAR, 1991).

Nas vespas eussociais basais, os ninhos podem ser fundados independentemente, ou seja, por uma única fêmea (haplometrose ou fundação solitária) ou por associação de algumas fêmeas (pleometrose) (RICHARDS & RICHARDS, 1951; RICHARDS, 1971; JEANNE, 1972; RICHARDS, 1978; JEANNE, 1980; GADAGKAR, 1991; TURILLAZZI & WEST-EBERHARD, 1996). Estes vespídeos também são caracterizados por apresentar colônias relativamente pequenas de ciclo curto (raramente mais do que 100 vespas adultas presentes), por diferenças morfológicas externas praticamente inexistentes entre as castas rainha e

operária, e conseqüente flexibilidade no papel social que os insetos adultos podem adotar (CHANDRASHEKARA & GADAGKAR, 1991; GADAGKAR, 1991).

Apesar de ser constituído por uma grande diversidade de espécies, o gênero *Mischocyttarus* tem sido pouco estudado. Entre as espécies, sem dúvida, *M. drewseni* tem sido a mais amplamente estudada (JEANNE, 1970, 1972; ARAUJO, 1980; JEANNE & CASTELLÓN–BERMUDEZ, 1980; GIANNOTTI & TREVISOLI, 1993; e NODA, 2005), onde o trabalho de Jeanne (1972), considerado clássico, tem sido usado para se fazer análises comparativas quanto aos vários aspectos da biologia social, como por exemplo, o hábito de nidificação, ciclo de vida, construção e arquitetura de ninho, relações de trofaláxis, hierarquia social e mecanismos de defesa.

Em relação às outras espécies do gênero mencionado existem as seguintes publicações principais: *M. flavitarsis* (LITTE, 1979); *M. mexicanus* (LITTE, 1977; HERMAN & CHAO, 1984 a, b); *M. immarginatus* (GORTON, 1978*); M. labiatus* (LITTE, 1981); *M. angulatus* e *basimaculus* (ITÔ, 1984*); M. extinctus* (RAPOSO-FILHO & RODRIGUES, 1983 a, b); *M. atramentarius* (SILVA & OLIVEIRA, 1989)*; M. mastigophorus* (O'DONNELL, 1998b), *M. cerberus styx* (GIANNOTTI, 1998, 1999; NODA et al., 2001; SILVA, 2002, 2008; TOGNI & GIANNOTTI, 2006, 2010; COSTA-FILHO et al., 2011); *M. (Monogynoecus) montei* (ZABBOTTO & SHIMA, 1998; OLIVEIRA, 2003, 2007; SAKAMOTO, 2000). Em relação à *Mischocyttarus cassununga,* existem os estudos de Machado & Wiendl (1976); Simões, Gobbi & Batarce (1985); Gobbi & Simões (1988); Giannotti & Fieri (1991); Giannotti & Silva (1993); Prezoto & Nascimento (1999); Digiampietri – Filho & Shima (1998); Prezoto et al. (2004); Murakami & Shima (2006, 2009); Murakami (2003, 2007); Murakami et al. (2009); e de Murakami & Shima (2010). Nestes trabalhos e naqueles acima citados, a maior ênfase tem sido dada à biologia da nidificação, aspectos da organização social, morfologia

externa e interna, dinâmica populacional, comportamento trófico, defesa, dominância e subordinação.

A espécie eussocial basal estudada constitui-se num excelente material de trabalho, já que a ausência de um invólucro recobrindo o favo (como ocorre na grande maioria dos Epiponini) e locais de nidificação em geral bem acessíveis ao observador, permitem coleta de dados com facilidade.

1.2. Hierarquia social

De forma geral, quando duas vespas se encontram sobre o favo elas se interagem com um comportamento característico dependendo da espécie e da estabilidade da hierarquia (RÖSELER, 1991). Conseqüentemente, as interações de dominância e subordinação formam uma importante parte na organização social das vespas eussociais basais (PARDI, 1948), e possibilitam a caracterização de determinado táxon. Nas vespas do gênero *Mischocyttarus* o estabelecimento da hierarquia semelhantemente ocorre com base em agressões físicas entre os indivíduos da colônia, e as posições hierárquicas podem ser afetadas por outros fatores tais como a nutrição e o desempenho na divisão de trabalho (O'DONNELL, 1998b; MARKIEWICZ & O'DONNELL, 2001).

Embora exista a tendência em padronizar o tipo característico das interações entre dois indivíduos de determinado grupo ou grupos, as interações nas vespas do gênero *Mischocyttarus*, a princípio, apresentam um padrão relativamente moderado de agressividade, ou seja, ocorrem sem a presença de injúrias sérias que causam a morte de um dos indivíduos. Diferentemente do gênero *Polistes*, onde os comportamentos agonísticos e lutas violentas são freqüentemente observados (PARDI, 1948; WEST-EBERHARD, 1969), e da subfamília Stenogastrinae, onde os encontros ocorrem sem violência e parecem ser mais decisivos na determinação da relação social do que em outros grupos (SAKAGAMI & YAMANE, 1990;

YAMANE et al., 1990). Dentro do presente grupo em questão, *M. drewseni* (JEANNE, 1972) destaca-se por apresentar níveis de agressividade entre os indivíduos bastante semelhantes ao de *Polistes dominulus* e *Polistes versicolor* (Tribo Polistini).

No contexto social da colônia, o termo dominância significa tanto dominância social quanto dominância reprodutiva, ou seja, a competição pela dominância social é equivalente à competição pela dominância reprodutiva, uma vez que, quando uma fundadora alcança a posição social de dominante concomitantemente torna-se a principal poedeira da colônia (PARDI, 1948; JEANNE, 1972; LITTE, 1977, 1979; GADAGKAR, 1980; LITTE, 1981; PRATTE, 1989; CHANDRASHEKARA & GADAGKAR, 1991; RÖSELER, 1991; TINDO et al. 1997; TINDO & DEJEAN, 1998). Dessa forma, a estabilidade da hierarquia depende principalmente da capacidade reprodutiva da fêmea fundadora dominante e da manutenção do seu status social de dominância.

Pesquisas realizadas sobre *M. cassununga* na região de Rio Claro têm mostrado que a hierarquia é bastante estável (MURAKAMI, 2003; MURAKAMI & SHIMA, 2006; MURAKAMI, 2007; MURAKAMI & SHIMA, 2009; MURAKAMI & SHIMA, 2010) quando comparada com outras espécies do mesmo gênero *M. drewseni* (NODA, 2005), *M. cerberus styx* (NODA et al., 2001; SILVA, 2002; COSTA-FILHO et al., 2011) e *M. montei* (OLIVEIRA, 2003, 2007). Consequentemente, a rainha desta espécie apresenta uma grande longevidade (=elevada duração da capacidade reprodutiva) obtendo o controle do seu status social durante todo o ciclo de desenvolvimento da colônia.

1.3. Morfofisiologia colonial

Nas vespas eussociais basais a diferenciação morfológica de castas não ocorre. Essa distinção se dá a nível comportamental de forma que os indivíduos mais dominantes se

especializam em determinadas tarefas, enquanto que os subordinados em outras (JEANNE, 1986; GIANNOTTI, 1992; KEEPING, 2000).

Em uma revisão, O'Donnell (1998) relata que os aspectos comportamentais e fisiológicos (inseminação, desenvolvimento ovariano e quantidade de corpo gorduroso) podem ser utilizados para distinguir rainha e operária. Ainda segundo este autor, a determinação de castas nas vespas sociais pode ocorrer durante a fase imatura (período pré-imaginal) pela diferenciação nutricional durante o desenvolvimento larval, ou após a emergência da fêmea (fase pós-imaginal) pela nutrição diferencial na vida adulta, a qual pode influenciar a sua capacidade e o seu estado reprodutivo na colônia. De acordo com Marchal (1896; 1897 apud WILSON, 1971) a divergência entre as castas nos Vespinae é baseada na discriminação nutricional durante o crescimento das larvas. Este mesmo sistema está presente nas vespas eussociais basais, portanto, a castração nutricional durante o período larval resulta em um adulto com ovário não desenvolvido (HUNT, 1994, 1996), cujas operárias são indivíduos subordinados os quais devem investir grande parte do tempo e energia em viagens de forrageamento (WILSON, 1971).

Os estudos têm mostrado que as interações agonísticas levam ao estabelecimento de uma hierarquia, onde o rank social é positivamente relacionado com o grau de sucesso reprodutivo direto do indivíduo na colônia (PARDI, 1948; JEANNE, 1972; LITTE, 1977, 1979; GADAGKAR, 1980; LITTE, 1981; PRATTE, 1989; CHANDRASHEKARA & GADAGKAR, 1991; TINDO et al. 1997; TINDO e DEJEAN, 1998). Portanto, o estabelecimento desta hierarquia resulta em uma vantagem para os indivíduos dominantes os quais obtêm o controle social afetando a divisão de trabalho dentro do grupo, assim como freqüentemente evitam atividades de risco ou elevado gasto de energia comportamental (MARKIEWICZ & O'DONNELL, 2001).

As vespas eussociais basais têm sido um importante objeto de estudo para analisar o relacionamento do comportamento social com a fisiologia (MARKIEWICZ & O'DONNELL, 2001). Nestes vespídeos, a posição social da fêmea depende freqüentemente e fortemente da sua fisiologia reprodutiva (PARDI, 1948; RÖSELER; RÖSELER & STRAMBI, 1985), ou seja, o estado de dominância do indivíduo aparentemente inicia uma resposta fisiológica direta que afeta o desenvolvimento do ovário (WHEELER, 1986). Resumindo, o desempenho da hierarquia de tarefas acompanha a hierarquia de dominância (JEANNE, 1991).

Os estudos sobre as vespas eussociais basais mostram que a rainha é a fêmea inseminada com mais elevado grau de desenvolvimento ovariano, e tipicamente domina todas as outras fêmeas em grande parte monopolizando a reprodução enquanto evita tarefas de alto custo energético tais como a atividade forrageira (JEANNE, 1972; PARDI, 1948; STRASSMANN & MEYER, 1983 e O'DONNELL, 1998a;. Entretanto, de acordo com Gobbi (1977), apesar das diferenças no repertório comportamental entre rainhas e operárias eussociais primitivas, cada fêmea é uma rainha em potencial, tendo condições de desenvolvimento ovariano. Dessa forma, é muito comum ocorrer uma inibição ovariana das subordinadas pelas rainhas funcionais ou dominantes (GOBBI, 1977; RICHARDS & RICHARDS, 1951; PARDI, 1948).

A ausência de inseminação, tem sido freqüentemente usada como um critério para a distinção das rainhas e operárias em vespas sociais (RICHARDS & RICHARDS, 1951; SHIMA, YAMANE & ZUCCHI, 1994, 1996a, b; SHIMA et al., 1998; O'DONNELL, 1998a; SHIMA et al., 2000). O corpo gorduroso, tido como o principal tecido de reserva de nutrientes e de substâncias energéticas, também tem ajudado no entendimento sobre a distinção entre as castas, rainha e operária (PAES DE OLIVEIRA, 2005). Segundo Wheeler (1994), a variação da fisiologia nutricional (corpo gorduroso= precursor do desenvolvimento do oócito, o qual apresenta intensa atividade metabólica, especialmente na produção de vitelogenina durante a

postura das fêmeas) e do desenvolvimento ovariano podem ser determinados pela diferença na realização da tarefa. Este autor ainda descreve que, em um contexto social, a ovogênese pode ser influenciada por vários outros fatores importantes para sua regulação tais como: nutrição, acasalamento, clima e outros indivíduos da mesma espécie (WHEELER, 1996).

Pesquisas recentes realizadas nas espécies ocorrentes na região do Campus Universitário da UNESP de Rio Claro (*M. cassununga* - MURAKAMI, 2003; MURAKAMI & SHIMA, 2006; MURAKAMI, 2007; MURAKAMI & SHIMA, 2009; MURAKAMI et al., 2009; *M. drewseni* - NODA, 2005; *M. montei* - OLIVEIRA, 2003, 2007 e *M. cerberus styx* - SILVA, 2002, 2008; COSTA-FILHO et al., 2011) mostram que as diferenças morfológicas externas são mínimas entre as castas reprodutivas e não reprodutivas. Por outro lado, as análises através da dissecção revelam o surpreendente fato da presença de mais de uma fêmea com ovário bem desenvolvido e inseminada em qualquer período da ontogenia colonial de *M. cassununga*, *M. cerberus styx* e *M. montei*. Tal ocorrência, principalmente em *M. cassununga*, a qual apresenta certas particularidades (hierarquia social bastante estável e alta longevidade da rainha na colônia) em relação às outras duas espécies presentes no Campus da Unesp, Rio Claro, SP, nos motivou a dar continuidade na pesquisa.

1.4. Comunicação química através dos hidrocarbonetos cuticulares

Dentro da organização social da colônia, o relacionamento entre os indivíduos ocorre sob regras precisas, onde cada indivíduo se comporta de maneira particular em relação aos outros membros da sua colônia, dependendo da sua casta. Portanto, estes indivíduos devem ser capazes de detectar sinais químicos específicos de modo a reconhecerem a casta para os quais os mesmos pertencem, assim como identificar individualmente os companheiros de um mesmo ninho, e diferenciar os intrusos ou invasores (LORENZI et al., 1997, SINGER & ESPELIE, 1997). Estes sinais químicos, os quais apresentam um papel significante no

reconhecimento dos indivíduos na colônia, são determinados por componentes genéticos (RATNIEKS, 1991; PAGE et al., 1991; ARNOLD et al., 1996) e ambientais (RATNIEKS, 1991; GAMBOA, 1996).

Howard & Blomquist (2005) relatam que um grande problema tem sido identificar os sinais pelos quais os indivíduos de uma colônia mantêm seus status e reconhecem os status de seus companheiros. Entre a ampla variedade de sinais químicos, os compostos não voláteis, conhecidos como hidrocarbonetos cuticulares, apresentam a sua importância nas pesquisas sobre semioquímicos utilizados no processo de reconhecimento (LORENZI et al., 1997). Dessa forma, além de proteger os insetos da dessecação, estes compostos que apresentam relativamente elevado peso molecular (não voláteis), também são considerados sinais primários no sistema de reconhecimento de insetos sociais (SINGER, 1998; HOWARD & BLOMQUIST, 2005). Por não serem altamente voláteis, os insetos são capazes de percebê-los através do contato direto ou a curta distância, por exemplo, através da "antenação" (LORENZI et al., 1997).

Dentre os diversos grupos de vespas eussociais basais pertencentes às Subfamilias Stenogastrinae e Polistinae, os estudos sobre a chave de reconhecimento químico têm se concentrado nas espécies do gênero *Polistes*. Estes estudos têm mostrado que as colônias de algumas espécies apresentam uma composição colônia-específica dos hidrocarbonetos: Espelie & Hermann (1990) em *Polistes annularis*, Espelie et al. (1990) e Layton et al. (1994) em *P. metricus*, Bonavita-Courgoudan et al. (1991) em *P. dominulus*. Em adição, Singer (1998) relata que pesquisas usando técnicas analíticas têm revelado que a composição dos hidrocarbonetos nos insetos sociais pode ser específica da colônia e das castas. Isto foi verificado de fato em algumas espécies mencionadas acima (*P. metricus* por ESPELIE et al., 1990 e LAYTON et al., 1994; *P. dominulus* por BONAVITA-COURGOUDAN et al., 1991; *P. satan* por TANNURE-NASCIMENTO et al., 2007). Embora se saiba que os

hidrocarbonetos não são os compostos exclusivos encontrados na cutícula das vespas, uma vez que complexas misturas de subtâncias polares protéicas podem também estar envolvidas na comunicação (SLEDGE et al., 2001; DAPPORTO et al., 2008), a maior parte dos estudos ainda concentram seus esforços no papel dessas substâncias apolares na comunicação química social.

Conforme Pfenning et al. (1983) e Gamboa et al. (1986), os compostos químicos que mediam o reconhecimento podem ser aprendidos pela vespa e/ou adquiridos do favo após poucas horas da sua emergência. Segundo pesquisas mais recentes, além da mistura de hidrocarbonetos sob o favo ser a mesma da cutícula dos indivíduos da colônia (ESPELIE et al., 1990; ESPELIE & HERMANN, 1990), as vespas adultas e as larvas também apresentam perfis similares nos hidrocarbonetos cuticulares (PANEK & GAMBOA, 2000). Entretanto, uma variação entre os perfis individuais pode existir refletindo a diferenciação reprodutiva entre os membros de uma colônia. Estudos em *Polistes dominulus* têm mostrado que os hidrocarbonetos cuticulares também são usados como sinais da atividade ovariana em fêmeas reprodutivas (SLEDGE et al. 2001; SLEDGE et al., 2004; DAPPORTO et al., 2005).

Visto que o gênero eussocial basal *Mischocyttarus*, endêmico das Américas, também pode ser considerado um grupo modelo para se estudar a evolução do comportamento social nos vespídeos, seria interessante investigar a organização colonial sob o aspecto bioquímico, tanto de *M. cassununga*, quanto das outras do mesmo grupo também presentes no Campus da Unesp, Rio Claro, SP, local onde o presente estudo foi realizado. Tal trabalho torna-se bastante viável, uma vez que espécies como *M. cassununga, M. cerberus styx, M. montei* e *M. drewseni*, como já relatado, são relativamente abundantes na região de Rio Claro. Além disso, com a ajuda deste método de estudo será possível investigar a relação de parentesco entre os indivíduos que compõem a colônia em *M. cassununga*, e verificar se todas as fêmeas

inseminadas, com potencial reprodutivo durante a ontogenia colonial desta espécie, estão produzindo prole 2n.

1.5. Justificativas

Diversos fatores tornam a espécie *M. cassununga* um excelente material de trabalho. Além do contraste existente entre diversidade taxonômica do grupo e abundância relativa das colônias com a ausência de conhecimentos sobre vários aspectos bionômicos (ex. determinação de castas, regulação social), esta espécie eussocial basal aparentemente possui características intermediárias entre espécies mais basais de Vespidae (ex. *Polistes* e algumas espécies de *Mischocyttarus*) e as mais derivadas (algumas Epiponini). Desse modo, a realização desta pesquisa traz benefícios para entendimento de importantes aspectos dentro do estudo comportamental e evolutivo, como por exemplo, os fatores envolvidos no padrão de organização social da espécie e o número de rainhas na colônia (monoginia – característico das vespas eussociais basais, ou poliginia – presente nas vespas eussociais derivadas). E, por fim, a comum ocorrência desta espécie de vespa eussocial basal na região, a ausência de um invólucro recobrindo o favo (como ocorre na grande maioria dos Epiponini), a presença de baixo número de indivíduos por colônia, e locais de nidificação em geral bem ascessíveis ao observador que permitem coleta de dados com facilidade, nos motiva enormemente realizar estudos sobre ela.

Até o presente momento, diversas questões sobre a biologia comportamental da vespa eussocial basal, *M. cassununga*, foram esclarecidas e melhor entendidas através dos projetos realizados durante a Iniciação Científica e Mestrado. Entretanto, apesar do êxito alcançado e do conhecimento adquirido, a necessidade de um estudo mais abrangente nos motiva a explorar melhor os aspectos bionômicos inerentes a esta espécie. Os trabalhos anteriores

mostraram que a hierarquia social na colônia é bastante estável, onde a rainha apresenta grande longevidade e mantém o controle social através de sua agressividade. Os conflitos hierárquicos são praticamente inexistentes nesta espécie, o que indica a importância da presença e da eficácia de um mecanismo de sinalização química durante o reconhecimento individual na colônia. Embora exista tal indício, o conhecimento sobre este mecanismo tanto na espécie quanto no gênero é ausente.

Um outro aspecto interessante refere-se ao pouco entendimento da relação entre os mecanismos do comportamento de dominância e a fisiologia reprodutiva. Os resultados anteriores também revelaram a presença de mais de uma fêmea inseminada e com ovário bem desenvolvido na colônia desta espécie. Em *M. cassununga* não há indícios da presença de um sistema de sinalização através da variabilidade fenotípica, como revelado em algumas espécies de *Polistes* (*P. fuscatus, P. dominulus* e *P. satan*). Nestas espécies existe uma diferenciação na pigmentação facial (clípeo) e foi demonstrado que isto tem relação com o status social na colônia (*P. fuscatus* por TIBBETTS, 2002; *P. dominulus* por TIBBETTS & DALE, 2004; *P. satan* por TANNURE-NASCIMENTO et al., 2008). Na espécie *P. satan*, ainda foi demonstrado que existe uma associação entre os sinais visuais e químicos (TANNURE-NASCIMENTO et al., 2008). Diferentemente, em *M. cassununga* todos os indivíduos são praticamente idênticos (Figura 1), diferindo apenas em algumas regiões do metassoma (MURAKAMI et al., 2009). Em adição, esta espécie aparentemente nidifica em locais mais protegidos e com baixa luminosidade (Figura 2 – observações pessoais). Consequentemente, tais características nos levam a questionar sobre importância dos hidrocarbonetos cuticulares na sinalização do estado reprodutivo das fêmeas dentro da organização social.

Os estudos sobre os hidrocarbonetos cuticulares têm sido realizados em algumas espécies de vespas eussociais basais na subfamilia Stenogastrinae, algumas espécies de *Ropalidia* (Subfamilia Polistinae) e principalmente sobre espécies do gênero cosmopolita *Polistes* na subfamilia Polistinae. Ao mesmo tempo, pesquisas mais recentes realizadas no Campus da UNESP de Rio Claro com espécies do gênero *Mischocyttarus*, endêmico das Américas, têm mostrado a importância e a necessidade desse tipo estudo. Dando uma continuidade na investigação desta espécie, tanto do ponto de vista comportamental, morfofisiológico como bioquímico, poderíamos entender melhor as suas particularidades em relação às outras também comumente encontradas na região e relativamente bem estudadas, tais como *M. drewseni, M. cerberus styx* e *M. montei*. Enfim, estudar espécies de Mischocyttarini, do ponto de vista comparativo, é fundamental, para entendermos não apenas os padrões de organização social de suas espécies, os quais a princípio vêm mostrando variação dentro do gênero e tribo mas, também, os mecanismos envolvidos na determinação de castas deste grupo de vespas eussociais basais.

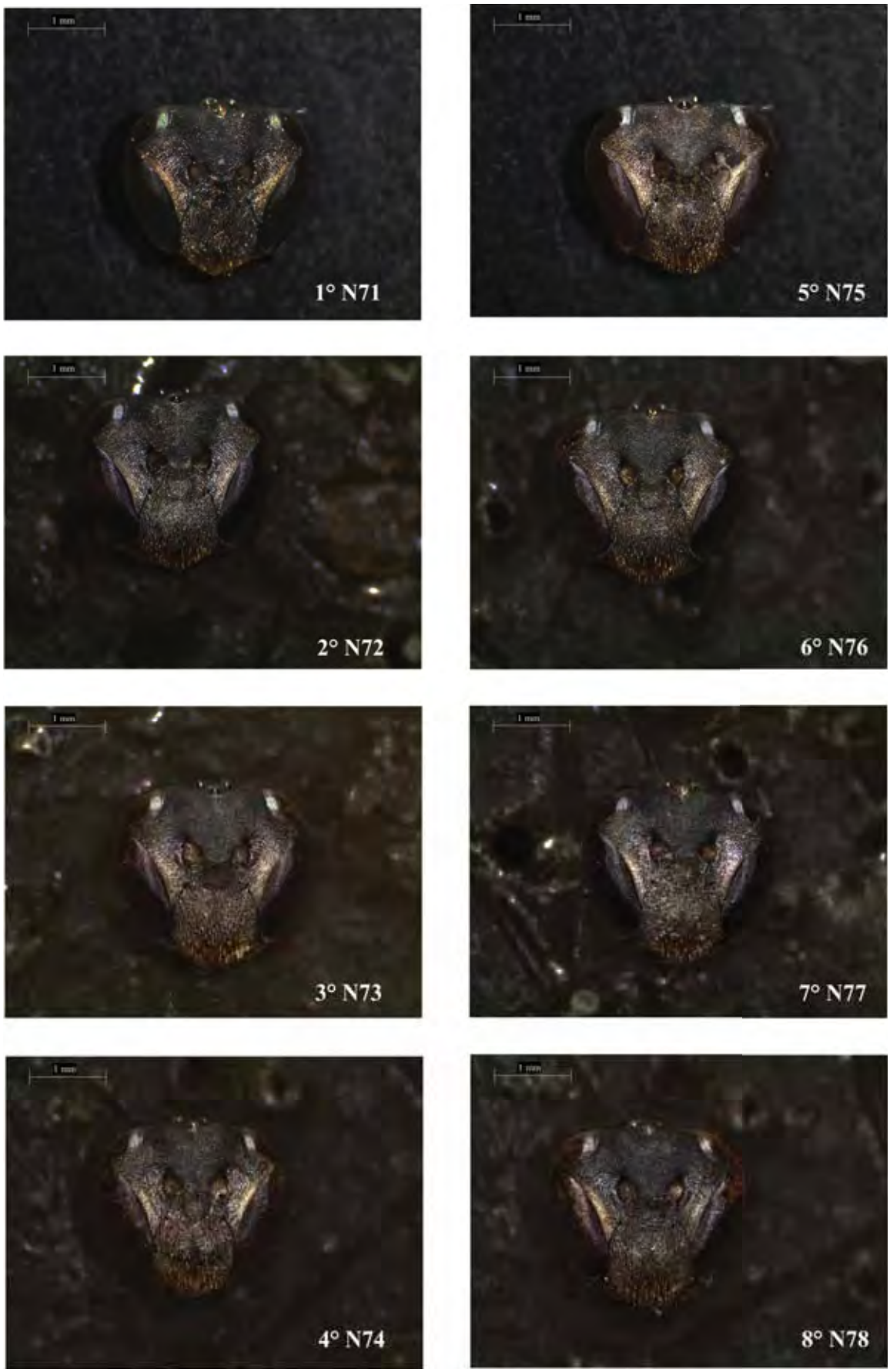


Figura 1: Perfis faciais das fêmeas de acordo com o ranking social da hierarquia de uma das colônias estudadas (N7) em *Mischocyttarus cassununga.*

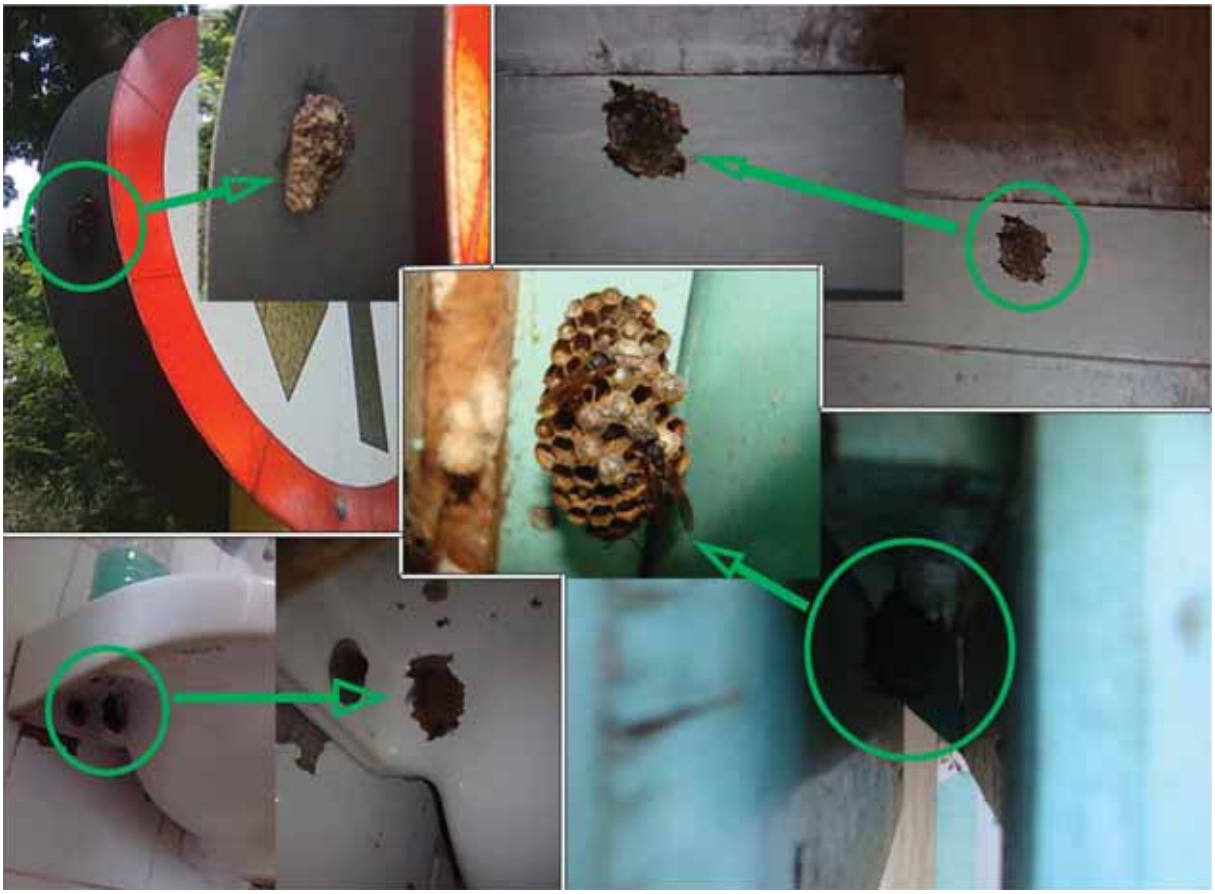


Figura 2: Exemplos de locais de nidificação das colônias de *Mischoyttarus cassununga* presentes no Campus da Unesp de Rio Claro.

OBJETIVO

Objetivo

O presente projeto teve como objetivo principal estudar a espécie *M. cassununga* do ponto de vista comportamental, morfofisiológico e bioquímico, dando continuidade ao entendimento sobre a sua organização e regulação social ao longo da ontogenia colonial. Dessa forma o estudo baseou-se nos seguintes itens principais:

A) Investigação do mecanismo de reconhecimento individual através dos padrões de dominância entre os indivíduos que compõem a hierarquia social.

B) Identificação qualitativa e quantitativa dos componentes químicos (hidrocarbonetos) que constituem o perfil cuticular e que puderam ser encontrados e identificados em uma população desta espécie.

C) Investigar se o perfil cuticular está ou não está sendo utilizado no processo de reconhecimento e sinalização inter e intra-colonial.

D) Examinar se o perfil químico do pedúnculo (suporte do ninho) apresenta uma similaridade com o perfil químico geral da sua corresponde colônia, ou seja, se ele é ou não colônia-específico.

E) Analisar se existe ou não uma variação individual no perfil destes compostos cuticulares conforme a ontogenia colonial (durante as subfases pré-macho e pós-macho), considerando os aspectos comportamentais e morfofisiológicos.

F) Encontrar respostas para algumas questões que permaneceram em aberto durante o trabalho de mestrado através da análise química dos indivíduos, como por exemplo, a comum presença de mais de uma fêmea inseminada durante quase todo o desenvolvimento da colônia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais e Métodos

A pesquisa foi realizada utilizando-se doze (12) colônias de uma população de *Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga* presentes no campus da UNESP de Rio Claro, SP. Este estudo foi desenvolvido predominantemente na Universidade Estadual Paulista (UNESP) e, num segundo momento, concomitantemente no campus da USP, Ribeirão Preto, SP. Do total de doze colônias na fase de pós-emergência, sete (7) colônias foram estudadas na subfase pré-macho e cinco (5) colônias na subfase pós-macho (Tabela 1). As observações foram feitas em indivíduos previamente marcados com tinta acrílica utilizada para aeromodelismo, atóxica e de rápida secagem. O estudo comportamental foi efetuado através de observações diretas a olho nu, e durante um período de aproximadamente 8 horas em cada uma das colônias.

Tabela 1: Fase e subfase do ciclo biológico, colônia e período de observação das colônias de *Mischocyttarus cassununga* estudadas no presente trabalho.

Fase	**Subfase**	**Colônia**	**Nº Indivíduos**			**Data (Mês/Ano)**
			EC	**AM**	**AQ**	
Pós-emergência	Pré-macho	N4	8	8	8	Junho/2009
		N6	10	9	9	Setembro/2010
		N7	8	8	8	Agosto/2010
		N10	8	5	5	Fevereiro/2010
		N11	8	6	5	Abril/2010
		N12	11	9	6	Maio/2010
		N13	8	6	9	Maio/2010
	Pós-macho	N5a	--	3	3	Setembro/2010
		N5b	5	7	7	Setembro/2010
		N8	5	9	9	Agosto/2009
		N9	8	6	6	Novembro/2009
		N14	13	--	11	Outubro/2009

EC- Estudo comportamental; AM- Análise mofofisiológica; AQ- Análise química
-- ausência de indivíduos (não foi realizado o estudo)

a) Identificação das fases do desenvolvimento colonial

As fases da ontogenia da colônia foram identificadas a partir de mapeamentos dos ninhos que permitiram acompanhar o número de imaturos (ovos e larvas) e maturos (adultos) presentes. Tais mapeamentos foram feitos periodicamente e, dependendo da condição biológica apresentada pela colônia, foi diário. As subfases do desenvolvimento colonial consideradas neste projeto foram: Pré-macho e pós-macho durante a fase de pós-emergência. Com esta seqüência ontogenética foi possível acompanhar a história comportamental e morfofisiológica de *M. cassununga* durante o período de produção das gerações de fêmeas

adultas e, início da fase reprodutiva ou de produção de machos, o quais ocorrem após a fundação do ninho e estabelecimento da hierarquia social na fase de pré-emergência.

b) Itens comportamentais observados

b.1.) Interações físicas entre os indivíduos adultos durante o estabelecimento e manutenção da hierarquia social na colônia

Baseado em estudos mais detalhados sobre os compostamentos de dominância e subordinação realizados em outras vespas eussociais basais (PARDI, 1948 em *Polistes dominulus (=gallicus)*; WEST-EBERHARD, 1969 em *P. canadensis* e *P. fuscatus*; JEANNE, 1972 em *Mischocyttarus drewseni*; LITTE, 1977 em *M. mexicanus*; LITTE, 1979 em *M. flavitarsis*; LITTE, 1981 em *M. labiatus*; ITÖ, 1984 em *M. angulatus* e *M. basimacula*; SAKAGAMI & YAMANE, 1990 em *Parischnogaster mellyi* e *Liostenogaster vechti*; GIANNOTTI, 1992 em *Polistes (Aphanilopterus) lanio lanio*, e PREZOTO et al., 2004 em *Mischocyttarus cassununga*), pretendeu-se estabelecer os padrões de dominância e subordinação em *Mischocyttarus cassununga*, para posteriormente relacioná-los com os demais aspectos a serem estudados.

Dessa maneira, os atos comportamentais preliminarmente considerados foram:

Atos de dominância: (1) Ameaçar ataque físico (agressão)- ficar em posição de ataque; (2) Perseguir- perseguir outra vespa na tentativa de dominar fisicamente; (3) Morder (agredir fisicamente)- morder com as mandíbulas na região da cabeça, mesossoma, metassoma ou asa; (4) Agarrar- prender outro indivíduo com as mandíbulas para dominá-lo; (5) Apalpar com as antenas- tocar o corpo de outra fêmea com as antenas sem agressão física; (6) Imobilizar- subir e permanecer um tempo em cima de outro indivíduo; (7) Solicitar alimento de outro indivíduo.

Atos de subordinação: (8) Permanecer imóvel e curvado para baixo durante a ameaça ou agressão; (9) Afastar ou desviar- se distanciar para evitar ataque físico; (10) Esquivar- sair rapidamente de perto da dominante e/ou sair do ninho antes ou após agressão; (11) Doar alimento a outro indivíduo antes de sofrer agressão.

Após a coleta dos dados em campo, a freqüência total de comportamentos de dominância e subordinação apresentadas pelas fêmeas foi quantificada, o que possibilitou a determinação da hierarquia social de dominância em cada uma das colônias estudadas.

A escala da hierarquia social em cada uma das colônias foi determinada pelo Índice de Dominância (Id) de cada indivíduo em sua respectiva colônia, com base em Prenmath et al. (1990). De acordo com Souza et al. (2011), este é o melhor índice para se construir uma hierarquia de dominância nesta espécie.

$$Id = \sum_{i=1}^{n} Bi + \sum_{j=1}^{m} \sum_{i=1}^{n} bji + 1 \; / \; \sum_{i=1}^{n} Li + \sum_{j=1}^{p} \sum_{i=1}^{n} lji + 1$$

Bi corresponde ao número de vezes (freqüência total) que um indivíduo x domina os outros membros da colônia; bji é a freqüência total que indica quantas vezes os indivíduos dominados por x dominam os outros membros da colônia; “1 to m” indicam o número total de indivíduos dominados por x; Li é a freqüência total que indica quantas vezes o indivíduo x foi dominado por outros membros da colônia; lji é a freqüência total que indica quantas vezes os indivíduos dominados por x foram dominados por outros membros da colônia; e “1 to p” indica o número total de indivíduos que dominaram o x.

b.2) Com base em nossos estudos anteriores sobre a mesma espécie, os demais comportamentos exibidos pelas fêmeas da espécie foram observados:

- (12) Postura de ovos (se possível, uma vez que este comportamento não é realizado com muita frequência)
- (13) Cuidado com a prole através da inspeção da células

- (14) Obtenção e ingestão de alimento a cada retorno da atividade de forrageamento das fêmeas subordinadas
- (15) Ingestão de alimento por trofaláxis ou trofalaxia (larva-adulto)
- (16) Oofagia
- (17) Atividade forrageadora (coleta de polpa vegetal e alimento: líquido e sólido)
- (18) Distribuição de alimento para as larvas no ninho
- (19) Aplicação de substâncias secretoras no ninho através do ato de esfregar a região ventral do gáster no ninho

Também considerou-se os demais aspectos observados nas fêmeas da espécie:

- (20) Frequência de permanência em repouso nos espaços do favo (frente, lateral e atrás) no ninho pelas fêmeas da colônia

Tais comportamentos sem dúvida ajudaram na distinção comportamental e fisiológica entre as fêmeas mais bem colocadas no ranking da hierarquia e as fêmeas subordinadas típicas durante o estabelecimento e manutenção do ranking social. Foi dada ênfase sobre o comportamento (16), uma vez que este pode fazer parte do processo de comunicação química.

c) Análises morfofisilógicas

Para a realização desta análise, todos os indivíduos das colônias foram previamente conservadas em freezer. Tal procedimento não incluiu a fixação em Dietrich por 72 horas devido a possibilidade e ao interesse de um estudo futuro de DNA de todos os indivíduos coletados. Posteriormente, todos os indivíduos foram dissecados e submetidos às seguintes análises:

Idade relativa: A idade relativa dos indivíduos foi determinada através da verificação da pigmentação dos apódemas transversos dos tergitos (Figura 3). Este método tem sido muito

utilizado em vespas da tribo Epiponini verificando-se os apódemas transversos dos esternitos (RICHARDS, 1971, 1978; SHIMA et al., 1994, 1996a, b, 1998, 2000; NOLL & ZUCCHI, 2000; NASCIMENTO et al., 2003; NODA et al., 2003; DESUÓ et al., 2009). Desta maneira adotou-se as seguintes colorações: *Cor Preta*- fêmeas relativamente mais velhas; *Cor castanho escuro*- fêmeas velhas; *Cor castanho claro*- fêmeas jovens; *Cor amarela*- fêmeas relativamente mais jovens.

Desenvolvimento ovariano: Investigou-se a condição do desenvolvimento ovariano de *M. cassununga* de todas as fêmeas acordo com as subfases pré-macho e pós-macho na fase de pós-emergência de acordo com os padrões já definidos para esta espécie (MURAKAMI e SHIMA, 2006) (Figura 4).

Presença de espermatozóides armazenados na espermateca: O conteúdo foi verificado pela opacidade apresentada e, também, pela presença de uma massa compacta arredondada, a qual pode ser perfeitamente visualizada através da película transparente da estrutura (Figura 5). Em caso de dúvida, uma lâmina foi preparada e a espermateca levemente pressionada por uma lamínula e observada ao microscópio. Esse método há muito vem mostrando ser eficiente para discriminar as fêmeas inseminadas das não inseminadas (v. SHIMA-MACHADO, 1983, SHIMA 1991, SHIMA et al. 1994, 1996 a,b, 1998, 2000, 2003, NODA et al. 2003).

Quantidade relativa de corpo gorduroso: A análise foi feita usando parâmetros relativos tais como, muita quantidade (cerca de 100% cobrindo todos os órgãos internos), quantidade moderada (cerca de 50%) e pouca quantidade (bem abaixo de 50%). Não foi possível montar uma figura representativa dos padrões de quantidade de corpo gorduroso presente nas fêmeas.

Desenvolvimento da glândula de Van der Vecht: Este órgão apresenta suma importância na defesa da colônia contra formigas, uma vez que a secreção é responsável pela repelência de formigas da colônia (VECHT, 1968; TURILAZZI, 1979; POST & JEANNE, 1980;

JEANNE et al., 1983). A análise foi feita usando parâmetros relativos tais como: glândula bastante desenvolvida (algumas vezes com secreção), glândula moderadamente desenvolvida (sem secreção) e glândula pouco desenvolvida (Figura 6). Esta, aliada às duas anteriores irá permitir a comparação do estado fisiológico do indivíduo com o seu histórico comportamental.

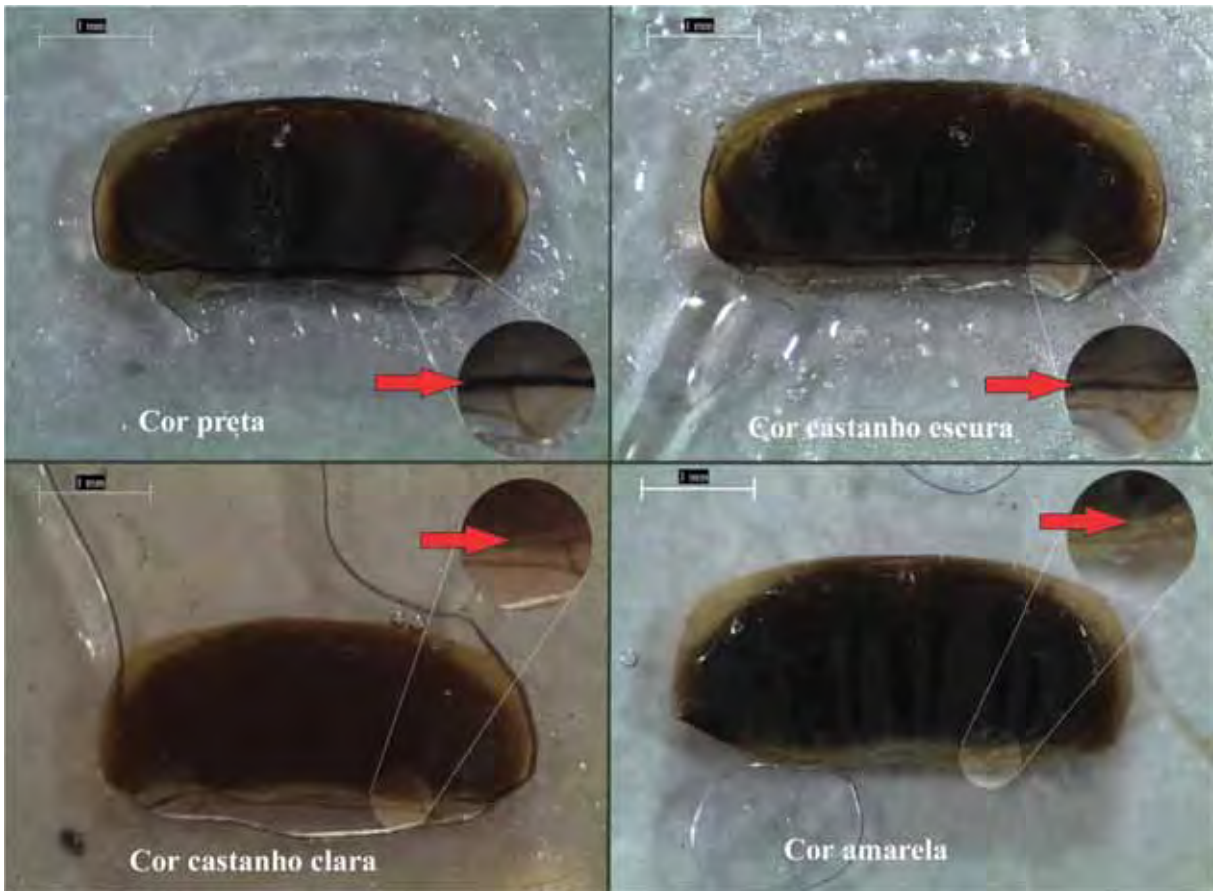


Figura 3. Idade relativa (*cor preta:* fêmeas mais velhas, *cor castanho escuro*: fêmeas relativamente velhas, *cor castanho claro*: fêmeas relativamente jovens e *cor amarela*: fêmeas mais jovens) de acordo com a pigmentação dos apódemoas transversos do terceiro tergito em *Mischocyttarus cassununga.* Seta vermelha: Região com pigmentação.

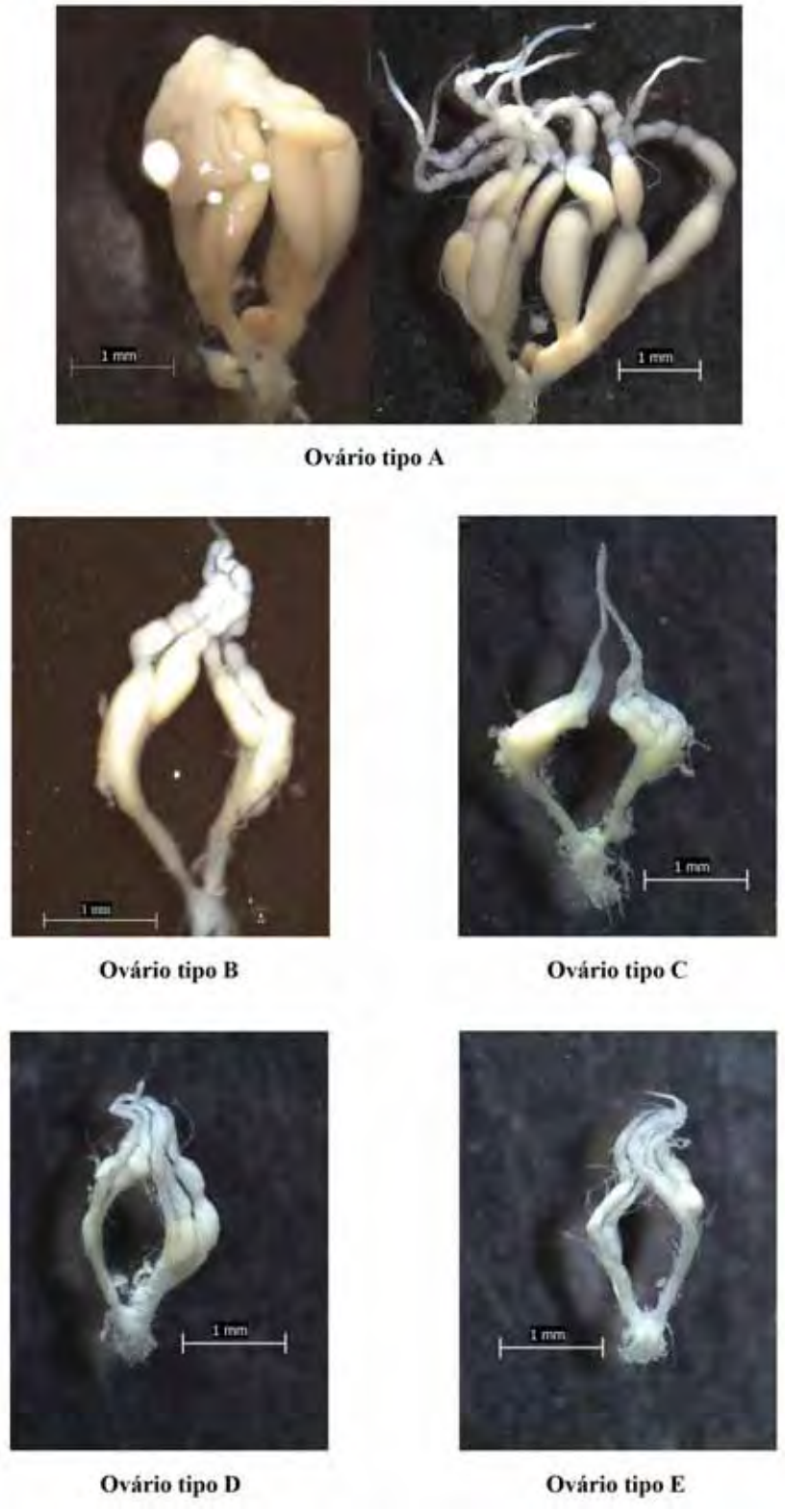


Figura 4. Padrão de desenvolvimento ovariano em *Mischocyttarus cassununga* (A: muito bem desenvolvido, B e C: bem desenvolvido, D: moderadamente desenvolvido, E: pouco desenvolvido. Adaptado de Murakami & Shima (2006).

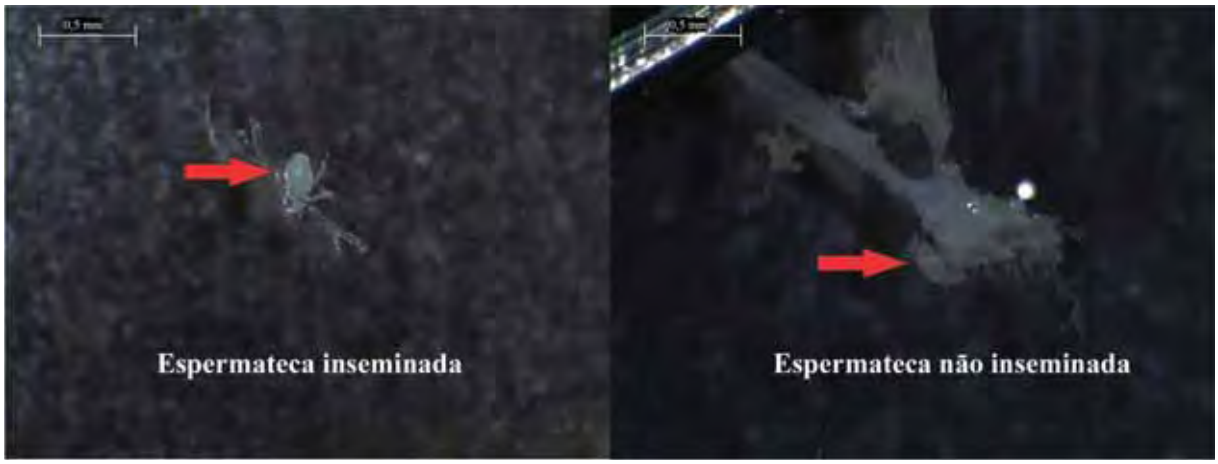


Figura 5. Espermatecas inseminada (esquerda) e não inseminada (direita) de *Mischocyttarus cassununga*. Seta vermelha: Espermatecas (formato sacular).

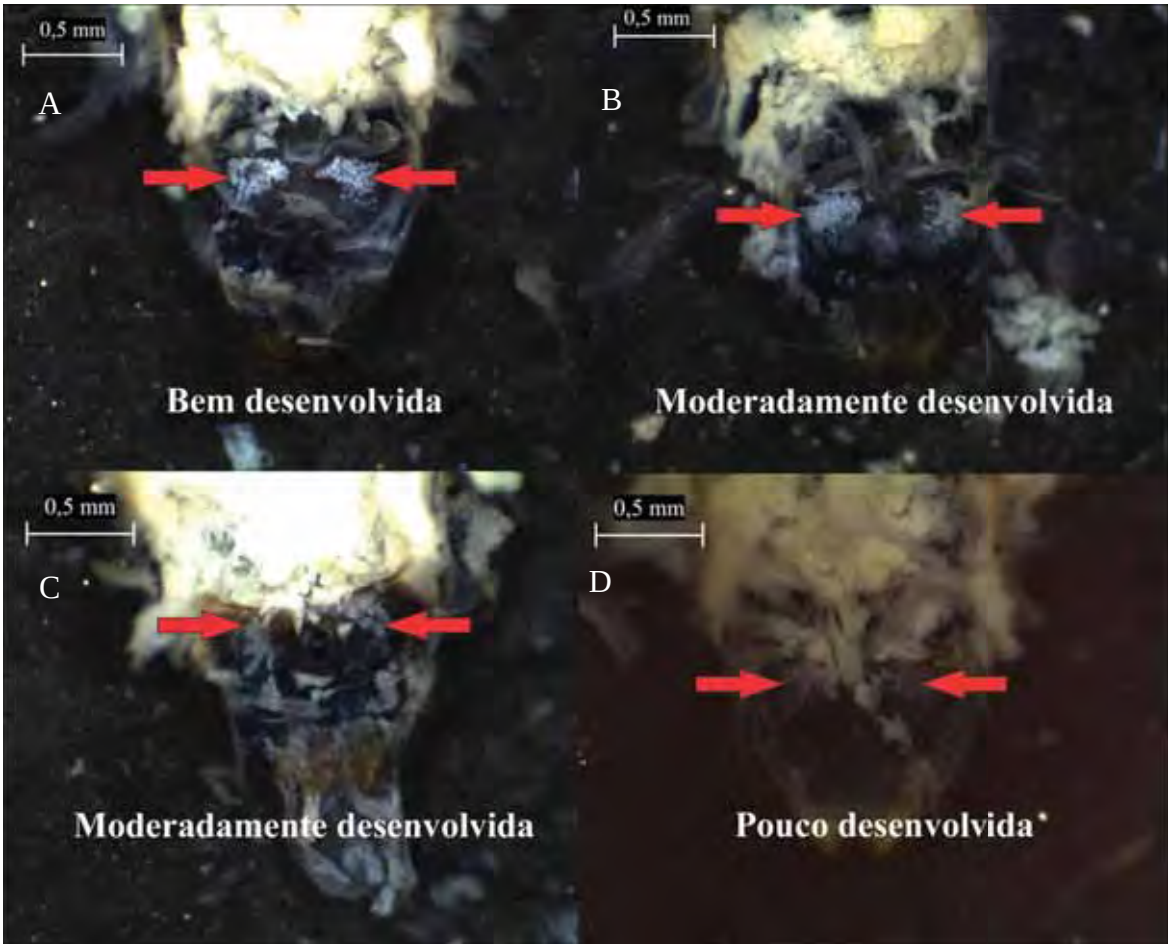


Figura 6: Glândula de Van der Vecht muito desenvolvida (A), moderadamente desenvolvida (B e C) e pouco desenvolvida sem secreção (D). Seta vermelha: Glândula de Van der Vecht.

d) Análise química

Após as observações etológicas, todas as colônias em cada uma subfases foram coletadas, onde todos os indivíduos foram colocados separadamente em frascos de vidros ou tubos *eppendorf* (1,5 ml) e permaneceram em freezer até o momento de extração dos compostos cuticulares. *Amostras adicionais:* Os ninhos e os indivíduos machos das colônias coletadas também foram postos em frasco separado à mesma temperatura para a análise química das células (da parte externa e do seu conteúdo: ovos, larvas e pupas) e do pedúnculo. Os compostos cuticulares de cada um dos indivíduos foram extraídos por meio de banho solvente apolar (hexano à 50-500 μl) por 1 minuto. As amostras foram analisadas em um sistema de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa no laboratório de Química Orgânica, da Faculdade de Farmácia de Ribeirão Preto da USP, com a colaboração do doutorando Túlio Nunes e sob a responsabilidade do Dr. Sidnei Mateus e do Prof. Dr. Ronaldo Zucchi do Departamento de Biologia, Setor de Ecologia e Evolução, da Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras da USP de Ribeirão Preto. Para a correta identificação dos compostos cuticulares foram realizadas comparações dos espectros de massa com a biblioteca Wiley e com dados de íons diagnósticos presentes na literatura. Todo o processo de identificação dos hidrocarbonetos foi realizado com o auxílio do programa *GCMS solutions for Windows* (Shimadzu corporation).

Alguns compostos não puderam ser identificados devido à baixa concentração em que foram encontrados. Substâncias presentes em um ou dois indivíduos amostrados dentro de sua respectiva colônia, foram representadas como *Traços* nas tabelas de concentrações relativas. Nestes casos, adotou-se um valor padronizado referente a 0,001, uma vez que não podemos afirmar com exatidão a presença ou ausência de um deteminado composto na amostra analisada.

A concentração desses compostos foi calculada a partir da área sob o pico. Para se evitar erros na composição dos dados amostrais (AITCHISON, 1986), a área de cada pico apontado pelo cromatograma foi transformado de acordo com a seguinte fórmula:

$$Z = \ln [A_p / g (A_p)]$$

Onde A_p é a área do pico, g (A_p) é a média geométrica do pico em cada grupo de fêmeas e Z é a área transformada do pico.

e) Análise Estatística

e.1) Análise sobre os dados comportamentais

Foi utilizado o teste não-paramétrico de correlação de postos de Spearman para verificar o grau de associação entre o índice de dominância (Id) e algumas variáveis comportamentais (ZAR, 1999). Dessa maneira, investigou-se a existência de uma correlação entre o Id x Frequência individual do ato de inspecionar as células (Comportamento 13, v. MATERIAIS E MÉTODOS), Id x Frequência individual do ato de esfregar o gáster sobre o ninho (Comportamento 20), Frequência individual do ato de inspecionar as células x Frequência individual do ato de esfregar o gáster sobre o ninho, entre o Id x Frequência da atividade de forrageamento (Comportamento 17) do indivíduo, e entre o Id x Frequêncial total de comportamentos intranidais realizados pela fêmea na colônia.

Esta análise ajudou a entender melhor a organização social da espécie dentro da colônia, ao mesmo tempo que, possibilitou a separação das fêmeas em grupos por padrões comportamentais. Além disso, o histórico comportamental dos indivíduos, aliado aos diversos parâmetros morfofisiológicos considerados neste estudo, permitiu investigar os perfis cuticulares detalhadamente através das análises multivariadas (Análises Discriminantes), na tentativa de se entender o real significado dos hidrocarbonetos nesta espécie.

e.2) Análise sobre os dados químicos

Devido a quantidade elevada do número de picos (88) detectados na espécie, foi necessária a realização de uma prévia filtragem dos dados transformados com base nas concentrações relativas. Conforme já mencionado, substâncias ausentes na maior parte dos indivíduos de um grupo foram excluídas das análises estatísticas. Além disso, antes da transformação das concentrações relativas dos compostos cuticulares, os compostos cuja concentração relativa foi menor que 1% foram desconsiderados na análise discriminante (KATHER et al., 2011).

Após a transformação das concentrações relativas das substâncias detectadas pelo GC-MS (v. Item **d)** (**Análise química**), os perfis químicos cuticulares dos indivíduos foram comparados de diversas maneiras através da análise discriminante *stepwise* (ZAR, 1999), de acordo com os grupos experimentais formados (Tabela 2). Também foi realizada uma MANOVA ($p < 0,05$) para verificar se existe uma diferença significativa entre estes grupos experimentais comparados.

As comparações através da análise discriminante, as quais podem ser vistas na tabela 2, foram realizadas para:

1ª) Verificar a possível existência de um perfil cuticular específico em cada uma das colônias estudadas, ou seja, a existência de uma sinalização através de hidrocarbonetos colônia-específicos. Justificativa da análise: Diversos trabalhos têm demonstrado a função colônia-específica dos hidrocarbonetos em espécies de *Polistes,* Stenogastrinae e *Ropalidia marginata*. Como exemplos podemos citar os trabalhos de Espelie et al. (1990), Layton et al. (1994), Bonavita-Courgoudan et al. (1991) e Tannure-Nascimento et al. (2007) em espécies de *Polistes,* de Cervo et al. (1996) e Cervo et al. (2002) em Stenogastrinae, e de Bhadra et al. (2010) em *Ropalidia marginata*;

2ª) e 3ª) Comparar os espectros dos hidrocarbonetos presentes (e que puderam ser identificados) nos pedúnculos dos ninhos com o perfil químico da respectiva colônia. Justificativa da análise: Alguns trabalhos têm investigado a composição química dos hidrocarbonetos presentes sobre o pedúnculo do ninho e têm mostrado que a proporção destas substâncias podem ser similares ou não com o perfil colonial (ESPELIE et al., 1990; ESPELIE & HERMANN, 1990; SINGER et al, 1992);

4ª) Verificar a existência de uma diferença nos perfis das fêmeas de acordo com as posições ocupadas na hierarquia social, ou seja, conforme a hierarquia de dominância. Justificativa da análise: O termo dominância significa tanto dominância social quanto reprodutiva (PARDI, 1948; RÖSELER, 1991), e na grande maioria da espécies eussociais basais, esta competição é realizada através do contato físico entre os membros da colônia. Este sistema de determinação hierárquica já foi comprovado na espécie em estudo (MURAKAMI, 2003; MURAKAMI & SHIMA, 2006; MURAKAMI, 2007; MURAKAMI & SHIMA, 2009; 2010; PREZOTO et al., 2004);

5ª) Investigar se a diferença dos perfis cuticulares na hierarquia social também ocorre conforme a ontogenia colonial (pré-macho x pós-macho). Justificativa da análise: Embora a hierarquia linear seja altamente estável na espécie estudada (MURAKAMI, 2003; MURAKAMI & SHIMA, 2006, 2009), durante a ontogenia colonial pode ocorrer uma leve alteração dos postos hierárquicos entre os indivíduos, e sem ocorrência de agressões (MURAKAMI, 2007);

6ª) Encontrar uma possível diferença no perfil químico entre os padrões comportamentais das fêmeas dominantes (fêmeas mais dominantes e outras hierarquicamente superiores, as quais permanecem mais tempo na colônia), fêmeas forrageadoras típicas (que passam grande parte do tempo longe do ninho forrageando), e fêmeas subordinadas mais inativas. Justificativa da análise: A realização do trabalho dentro da colônia é influenciada

pelas interações de dominância entre todos os indivíduos co-específicos (entre a dominante reprodutiva e subordinadas, assim como entre todas as subordinadas) (PARDI, 1948; JEANNE, 1972; LITTE, 1977; CHANDRASHEKARA & GADAGKAR, 1991; JEANNE, 1991; O'DONNELL, 1998a, b).

7ª) Comparar estes mesmos grupos de fêmeas foram separados de acordo com as subfases pré-macho e pós-macho, e desse modo, verificar uma possível variação dos perfis químicos conforme a ontogenia da colônia. Justificativa da análise: Segundo Strassmann (1983), em ninhos maiores e com mais indivíduos, a capacidade da rainha de dominar fisicamente todas as subordinadas diminui, e em tais casos, algum grau de controle é perdido. Em *Polistes fuscatus,* conforme Reeve & Gamboa (1983), nestes casos, a rainha aumenta sua atividade para manter o controle, foca sua atenção em alguns indivíduos, os quais, por sua vez, regulam a atividade de outros subgrupos de adultos na colônia. Estes "reguladores subsidiários" podem ocupar um elevado posto hierárquico e, até mesmo, dividir uma certa reprodução individual. Em *M. cassununga,* o número de fêmeas potencialmente reprodutivas aumenta na subfase pós-macho, embora a fêmea poedeira dominante não seja o único indivíduo inseminado na colônia durante a subfase pré-macho (MURAKAMI, 2007; MURAKAMI et al., 2009);

8ª) Verificar um padrão de odor específico existêncial entre fêmeas inseminadas e não inseminadas (reprodutivas x não reprodutivas) (*Ver observação);

9ª) Identificar uma possível diferença do perfil cuticular conforme os padrões de desenvolvimento ovariano (status social) das fêmeas desta espécie (*Ver observação);

10ª) Verificar a existência de uma possível diferença nos perfis químicos cuticulares de acordo com a idade relativa (ontogenia individual) das fêmeas (*Ver observação);

11ª) Detectar uma possível diferença dos perfis cuticulares das fêmeas de acordo com o desenvolvimento da glândula de Van der Vecht (*Ver observação);

12ª) Averiguar uma possível diferença dos perfis cuticulares em relação à quantidade relativa de corpo gorduroso das fêmeas (*Ver observação);

13ª) A análise discriminante foi realizada considerando a união dos caracteres morfofisiológicos (inseminação, desenvolvimento ovariano, desenvolvimento da glândula de Van der Vecht e quantidade relativa de corpo gorduroso). Justificativa da análise: Isto foi feito na tentativa de comparar, se possível, quais dos parâmetros fisiológicos deve ou devem estar provavelmente mais relacionados ao perfil cuticular individual na espécie. O desenvolvimento individual depende de vários aspectos fisiológicos atuando em conjunto, dessa maneira, seria sensato supor a possibilidade da influência conjunta de tais fatores;

14ª) Por fim, a última análise foi feita para se detectar a existência de um mecanismo de sinalização química entre o perfil cuticular do indivíduo e o seu status social na colônia foi realizada considerando estes grupos conforme a subfase pré-macho e pós-macho (ontogenia colonial).

Obs: * As análises estatísticas foram realizadas para verificar a relação entre o estado fisiológico e o perfil químico individual considerando cada um dos parâmetros fisiológicos isoladamente. Justificativa das análises: Para investigar a importância da fisiologia relacionada ao perfil químico individual na espécie, primeiramente verificou-se influência de cada parâmetro isoladamente. Posteriormente considerou-se a junção de todos os parâmetros dos indivíduos. Isto foi feito no intuito de analisar mais detalhadamente a importância de cada parâmetro fisiológico do indivíduo, dentro do contexto social da colônia. Para isso, consideramos os parâmetros como inseminação e desenvolvimento ovariano como fatores diretamente relacionados com o status reprodutivo, uma vez que a fêmea dominante reprodutiva na colônia encontra-se fisiologicamente nestas condições. Já os parâmetros como quantidade de corpo gorduroso e desenvolvimento da glândula de Van der Vecht foram considerados indiretamente relacionados ao status reprodutivo. No primeiro caso porque na

espécie em estudo já foram encontradas fêmeas reprodutivas com baixa quantidade relativa desse corpo provavelmente devido ao seu estado senil (MURAKAMI, 2006; MURAKAMI & SHIMA, 2006), e no segundo porque o comportamento de esfregar o gáster no ninho aparentemente pode não ser exclusivo da fêmea dominante reprodutiva. Estudos têm mostrado que os hidrocarbonetos cuticulares também diferem em relação às castas e ao estado fisiológico individual sugerindo a sua utilização na sinalização intracolonial (LORENZI et al., 1996; PEETERS et al., 1999; SLEDGE et al., 2001; DAPPORTO et al., 2004).

A colônia N14 não foi incluída na análise discriminante das variáveis morfofisiológicas e nem na décima análise (comparação por idade relativa), pois durante as observações na subfase pós-macho a colônia desapareceu. Cabe ressaltar que esta colônia "mãe" (N14) acabou se dividindo em três colônias (N14a, N14b e N14c).

A colônia N5a não foi considerada na oitava análise devido a ausência de dados comportamentais sobre ela. Somente a colônia N5b apresenta dados dos comportamentos, uma vez que optou-se por acompanhá-la quando a colônia N5 (colônia "mãe") se dividiu em duas durante as observações de campo.

A coleta, extração e análise dos hidrocarbonetos presentes nos pedúnculos dos ninhos permitiu uma melhor análise da especificidade das substâncias encontradas nas colônias. As colônias nas quais foi possível realizar esta análise foram: N4, N5a, N5b, N8, N12, N13, N14a, N14b e N14c.

Tabela 2: Análise comparativa dos perfis cuticulares entre os grupos de fêmeas de *M. cassununga*.

Comparações	**N° de grupos**	**Grupos**
1ª) Entre todas as colônias	12	Colônia N4 x Colônia N5a x Colônia N5b x Colônia N6 x Colônia N7 x Colônia N8 x Colônia N9 x Colônia N10 x Colônia N11 x Colônia N12 x Colônia N13 x Colônia N14
2ª) Colônias + pedúnculo na subfase pré-macho	2	Colônia N4 x Colônia N8 x Colônia N12 x Colônia N13
3ª) Colônias + pedúnculo na subfase pré-macho	2	Colônia N5a x Colônia N5b x Colônia N14 (subdividida)
4ª) Entre as posições hierárquicas	4	1ª posição X 2ª posição X 3ª posição X Demais posições
5ª) Entre as posições hierárquicas conforme a subfase pré-macho e pós-macho	8	Pré (1ª posição x 2ª posição x 3ª posição x Demais posições) x Pós (1ª posição x 2ª posição x 3ª posição x Demais posições)
6ª) Divisão de tarefas	3	Fêmeas dominantes (mais dominantes + outras fêmeas superiores) x Fêmeas forrageadoras típicas X Fêmeas subordinadas relativamente inativas
7ª) Divisão de tarefas	6	Pré x Pós (Fêmeas dominantes (mais dominantes + outras fêmeas superiores) x Fêmeas forrageadoras típicas x Fêmeas subordinadas relativamente inativas)
8ª) Inseminadas x Não inseminadas	2	Inseminadas X Não inseminadas
9ª) Entre padrões de desenvolvimento do ovário	5	Padrão A x Padrão B x Padrão C x Padrão D x Padrão E
10ª) Entre idade relativa	4	Mais velhas x Relativamente velhas x Relativamente jovens x Mais jovens
11ª) Entre desenvolvimento da glândula de Van der Vecht	3	Glândula bem desenvolvida x Glândula moderadamente desenvolvida x Glândula pouco desenvolvida
12ª) Entre a quantidade relativa de corpo gorduroso	3	Bastante quantidade x Quantidade moderada x Pouca quantidade
13ª) Caracterização das Fêmeas na colônia	5	G1 x G2 x G3 x G4 x G5
14ª) Caracterização das Fêmeas na colônia	10	Pré x Pós (G1 x G2 x G3 x G4 x G5)

Obs: A colônia N5 foi subdividida em N5a e N5b na análise discriminante devido a sua repartição e divisão da hierarquia social durante as observações comportamentais no campo.

RESULTADOS

Resultados

a) Estudo comportamental da organização social em *M. cassununga*

a.1) Determinação da hierarquia social de dominância

Através da coleta de dados comportamentais em campo e da obtenção do índice de dominância (Id) de cada um dos indivíduos nas colônias estudadas, durante as subfases pré-macho e pós-macho na pós-emergência, os resultados do estudo comportamental confirmaram a existência de uma hierarquia social linear bastante estável, onde a fêmea mais agressiva ocupa uma melhor posição no ranking da hierarquia social.

Tanto na subfase de pré-macho (Tabelas 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 15) quanto na pós-macho (Tabelas 17, 19, 21 e 23), a fêmea mais dominante foi o indivíduo que realizou com maior frequência o comportamento agressivo sobre os outros, e ao mesmo tempo, foi menos ou quase nunca agredido. Consequentemente, a fêmea mais agressiva apresentou o Id mais elevado da colônia, seguida da segunda dominante, e assim por diante em ambas subfases (pré-macho: tabelas 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 16; pós-macho: 18, 20, 22 e 24).

Dentre os tipos de comportamento agonísticos observados, o ato do indivíduo dominante de verificar com as antenas o subordinado imóvel (em posição de “akinesis”) foi predominantemente o mais observado e, em uma proporção bem menor observou-se o ato de um indivíduo dominante ameaçar o seu subordinado, o qual sempre se afasta para evitar o confronto direto. Por terem sido raramente executados, as frequências de ameaças não foram incluídas na análise da hierarquia de dominância. Não foi observado nenhum tipo de interação agonística violenta (ex: mordidas entre duas ou mais fêmeas) entre os indivíduos das colônias.

Tabela 3: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N4 de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pré-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N4		**Subordinação**								
		N41	N42	N45	N43	N411	N44	N414	N47	Total
Dominância	N41		42	35	16	1	25	3	0	122
	N42	0		15	27	5	17	2	0	66
	N45	0	2		3	3	17	0	0	25
	N43	0	0	17		4	11	1	0	33
	N411	0	0	1	0		0	0	0	1
	N44	2	0	1	0	2		0	1	4
	N414	0	0	0	0	0	2		0	2
	N47	0	0	0	0	0	1	0		1
	Total	2	44	69	46	15	73	6	1	254

Tabela 4: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N4 de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pré-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N4	1°	N41	1,0294
	2°	N42	0,5635
	3°	N45	0,5508
	4°	N43	0,3554
	5°	N411	0,3418
	6°	N44	0,2405
	7°	N414	0,125
	8°	N47	0,12
	X	N46	0
	X	N48	0
	X	N49	0
	X	N412	0
	X	N413	0
	X	N415	0

Obs: A letra X corresponde aos indivíduos que não obtiveram uma posição definida no ranking da hierarquia de dominância.

Tabela 5: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N6 de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pré-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N6		**Subordinação**										
		N61	N62	N63	N64	N65	N66	N67	N68	N69	N610	Total
Dominância	N61		19	5	7	8	0	0	12	0	3	54
	N62	0		29	13	20	1	0	14	0	2	79
	N63	0	0		8	18	0	1	8	1	2	38
	N64	0	0	0		4	0	0	11	0	0	15
	N65	0	0	0	0		0	0	11	0	0	11
	N66	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0
	N67	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0
	N68	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0
	N69	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0
	N610	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
	Total	0	19	34	28	50	1	1	56	1	7	197

Tabela 6: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N6 de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pré-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N6	1°	N61	1,0154
	2°	N62	0,7347
	3°	N63	0,3672
	4°	N64	0,2
	5°	N65	0,1121
	6°	N66	0,5
	7°	N67	0,5
	8°	N69	0,5
	9°	N610	0,1429
	10°	N68	0,0175

Tabela 7: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N7 de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pré-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N7		**Subordinação**								
		N71	N72	N73	N74	N75	N76	N77	N78	Total
Dominância	N71		24	28	13	1	2	0	0	68
	N72	0		11	11	1	0	0	0	23
	N73	0	0		10	2	1	1	1	15
	N74	0	0	1		0	1	1	1	4
	N75	0	0	0	0		0	0	0	0
	N76	0	0	0	0	0		0	0	0
	N77	0	0	0	0	0	0		0	0
	N78	0	0	0	0	0	0	0		0
	Total	0	24	40	34	4	4	2	2	110

Tabela 8: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N7 de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pré-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N7	1°	N71	1,0374
	2°	N72	0,4175
	3°	N74	0,241
	4°	N73	0,2184
	5°	N75	0,2
	6°	N76	0,2
	7°	N77	0,2
	8°	N78	0,2

Tabela 9: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N10 de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pré-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N10		**Subordinação**								
		N101	N102	N103	N104	N105	N106	N107	N108	Total
Dominância	N101		50	0	0	1	0	1	0	52
	N102	1		3	2	0	0	1	0	6
	N103	0	0		0	0	0	0	0	0
	N104	0	0	0		0	0	0	0	0
	N105	0	0	0	0		0	0	0	0
	N106	0	0	0	0	0		0	0	0
	N107	0	0	0	0	0	0		0	0
	N108	0	0	0	0	0	0	0		0
	Total	0	50	3	2	1	0	2	0	58

Tabela 10: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N10 de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pré-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N10	1°	N101	1,0727
	2°	N102	0,1207
	3°	N105	0,5
	4°	N104	0,3333
	5°	N103	0,25
	X	N106	0
	X	N107	0
	X	N108	0

Obs: A letra X corresponde aos indivíduos que não obtiveram uma posição definida no ranking da hierarquia de dominância.

Tabela 11: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N11 de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pré-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N11		**Subbordinação**								
		1°N01	2°N02	3°N03	4°N04	N05	N06	N07	N08	Total
Dominância	1°N01		39	36	1	4	0	10	0	90
	2°N02	0		26	0	2	0	5	0	33
	3°N03	0	0		0	0	1	14	0	15
	4°N04	0	0	0		0	0	0	0	0
	N05	0	0	0	0		0	0	0	0
	N06	0	0	0	0	0		0	0	0
	N07	0	0	0	0	0	0		0	0
	N08	0	0	0	0	0	0	0		0
	Total	0	39	62	1	6	1	29	0	138

Tabela 12: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N11 de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pré-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N11	1°	N01	1,007
	2°	N02	0,358
	3°	N03	0,174
	4°	N05	0,033
	X	N04	0
	X	N06	0
	X	N07	0
	X	N08	0

Obs: A letra X corresponde aos indivíduos que não obtiveram uma posição definida no ranking da hierarquia de dominância.

Tabela 13: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N12 de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pré-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N12		**Subordinação**											
		1°N201	2°N202	3°N203	4°N204	5°N205	6°N209	7°N210	8°N206	N211	N207	N208	Total
Dominância	1°N201		15	18	14	3	0	0	2	0	1	7	60
	2°N202	0		4	4	5	0	0	0	0	0	2	15
	3°N203	0	0		7	6	0	0	1	0	0	2	16
	4°N204	0	0	0		0	0	0	3	0	1	3	7
	5°N205	0	0	0	2		0	0	2	0	0	0	4
	6°N209	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0
	7°N210	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0
	8°N206	0	0	0	1	0	0	0		0	0	1	2
	N211	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0
	N207	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0
	N208	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
	Total	0	15	22	28	14	0	0	8	0	2	15	104

Tabela 14: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N12 de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pré-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N12	1°	N201	1
	2°	N202	0,458
	3°	N203	0,409
	4°	N204	0,351
	5°	N205	0,137
	6°	N206	0,041
	7°	N207	0,032
	8°	N208	0,013
	X	N209	0
	X	N210	0

Obs: A letra X corresponde aos indivíduos que não obtiveram uma posição definida no ranking da hierarquia de dominância.

Tabela 15: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N13 de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pré-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N13		**Subordinação**								
		1°N301	2°N302	3°N304	4°N305	5°N303	N3011	N3013	N3012	Total
Dominância	1°N301		10	4	2	0	0	0	2	18
	2°N302	0		4	2	3	0	0	1	10
	3°N304	0	0		1	2	0	0	1	4
	4°N305	0	0	0		1	0	0	0	1
	5°N303	0	0	0	0		0	0	0	0
	N3011	6	3	0	0	0		0	0	9
	N3013	0	0	0	0	0	0		0	0
	N3012	0	0	0	0	0	0	0		0
	Total	6	13	8	5	6	0	0	4	42

Tabela 16: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N13 de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pré-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N13	1°	N301	1,097
	2°	N302	0,432
	3°	N304	0,25
	4°	N305	0,167
	5°	N303	0,143
	X	N3011	0
	X	N3013	0
	X	N3012	0

Obs: A letra X corresponde aos indivíduos que não obtiveram uma posição definida no ranking da hierarquia de dominância.

Tabela 17: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N5a e N5b de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pós-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N5a		**Subordinação**			
		X1	X2	X3	Total
Dominância	X1		12	7	19
	X2	1		6	7
	X3	0	1		1
	Total	1	13	13	27

Colônia N5b		**Subordinação**						
		N51	N52	N53	N54	N55	N56-M	Total
Dominância	N51		37	14	2	4	0	57
	N52	0		10	1	4	0	15
	N53	0	0		6	0	0	6
	N54	0	0	0		0	0	0
	N55	0	0	0	0		0	0
	N56-macho	0	0	0	0	0		0
	Total	0	37	24	9	8	0	78

Tabela 18: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N5a e N5b de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pós-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N5a	1°	X1	1,87
	2°	X2	0,61
	3°	X3	0,48
N5b	1°	N51	1
	2°	N52	0,2963
	3°	N53	0,2059
	X	N54	0
	X	N55	0
	X	N56	0

Obs: A letra X corresponde aos indivíduos que não obtiveram uma posição definida no ranking da hierarquia de dominância.

Tabela 19: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N8 de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pós-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N8		**Subordinação**					
		N81	N82	N83	N84	N85	Total
Dominância	N81		12	5	5	3	25
	N82	0		4	3	0	7
	N83	0	0		0	0	0
	N84	0	0	0		0	0
	N85	1	0	0	0		1
	Total	1	12	9	8	3	33

Tabela 20: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N8 de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pós-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N8	1°	N81	1
	2°	N82	0,2667
	3°	N84	0,1111
	4°	N83	0,1
	5°	N85	0

Tabela 21: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N9 de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pós-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N9		**Subordinação**								
		N91	N92	N93	N94	N95	N96	N97	N98	Total
Dominância	N91		15	10	15	12	1	4	3	60
	N92	0		11	5	9	1	5	0	31
	N93	0	0		2	4	1	2	0	9
	N94	0	1	3		14	2	3	3	26
	N95	0	0	0	1		2	2	3	8
	N96	0	0	0	0	0		0	0	0
	N97	0	0	0	0	0	0		1	1
	N98	0	0	0	0	0	0	0		0
	Total	0	16	24	23	39	7	16	10	135

Tabela 22: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N9 de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pós-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N9	1°	N91	1
	2°	N92	0,6032
	3°	N94	0,5588
	4°	N93	0,4091
	5°	N95	0,375
	6°	N96	0,125
	7°	N98	0,0909
	8°	N97	0,0741

Tabela 23: Número absoluto dos comportamentos de dominância e subordinação da colônia N14 de *Mischocyttarus cassununga* durante subfase pós-macho na fase de pós-emergência. (Total de 8 horas de observação)

Colônia N14		**Subordinação**													
		a3	b1	c2	a6	c1	b2	d1	d2	d3	a4	a5	a1	a2	Total
Dominância	a3		3	9	11	0	6	1	0	0	1	0	5	0	36
	b1	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	c2	0	0		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	a6	0	0	1		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	c1	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0
	b2	2	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	2
	d1	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0
	d2	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0
	d3	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0
	a4	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0
	a5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0
	a1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0
	a2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	2		6
	Total	3	3	10	13	0	6	1	0	0	4	0	7	0	47

Tabela 24: Índice de dominância (Id) dos indivíduos da colônia N14 de *Mischocyttarus cassununga* durante a subfase pós-macho na fase de pós-emergência.

Colônia	**Ranking**	**Fêmea**	**Id**
N14	1°	a3	0,8888
	2°	b1	0,25
	3°	c2	0,1666
	4°	a6	0,1666
	X	c1	0
	X	b2	0
	X	d1	0
	X	d2	0
	X	d3	0
	X	a4	0
	X	a5	0
	X	a1	0
	X	a2	0

Obs: A letra X corresponde aos indivíduos que não obtiveram uma posição definida no ranking da hierarquia de dominância.

a.2) Quantificação dos comportamentos através da frequência de tarefas intranidais e extranidais realizadas pelas fêmeas

Com base na observação das frequências de cada uma das atividades realizadas pelos indivíduos em suas respectivas colônias, os resultados mostraram que aparentemente existem diferenças comportamentais entre as fêmeas de posições hierárquicas superiores (mais dominantes) e as de baixas posições (mais subordinadas). Em ambas as subfases pré-macho (Tabelas 25, 26 e 27) e pós-macho (Tabelas 28 e 29) das colônias estudadas, percebe-se que as fêmeas das primeiras posições no rank hierárquico (fêmea mais dominante + segunda e terceira do ranking) nitidamente permanecem mais tempo sobre o ninho, repousando preferencialmente na região frontal (abertura das células) e realizando certas atividades intranidais, tais como, obter alimento trazido pelas forrageadoras (2), alimentar as larvas (5), realizar trofaláxis com as larvas (3), mas principalmente inspecionar as células (8) e esfregar o gáster no ninho (10). Apenas as fêmeas mais dominantes (1ª posição) e as outras mais bem posicionadas no ranking da hierarquia (2ª e 3ª posições) foram observadas relizando a postura de ovos (1) (Tabelas 25, 26 e 28). Quando estas fêmeas mais bem posicionadas no ranking saem do ninho, frequentemente coletam polpa para o aumento das células e da colônia (7.2). Por outro lado, algumas fêmeas subordinadas (forrageadoras típicas) juntas são responsáveis pela maior parte da atividade de coleta do alimento (7.1), e portanto, permanecem relativamente menos tempo em repouso sobre o ninho. Algumas fêmeas mais subordinadas (que geralmente ocupam as posições mais baixas no rank) executaram poucos comportamentos durante as observações, ou seja, permaneceram relativamente menos ativas na colônia.

Tabela 25: Quantificação dos comportamentos observados nas colônias N4, N6 e N7 durante a subfase pré-macho na fase de pós-emergência de *Mischocyttarus cassununga*.

Frequência dos atos comportamentais observados														
Colônia N4														
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
1° N41	0	5	3	17	1	14	55	1	3	112	33	5	10	61
2° N42	0	9	4	16	0	18	48	1	1	47	14	14	16	37
3° N45	1	4	3	20	0	8	43	0	6	64	9	12	16	43
4° N43	0	4	4	23	0	18	40	1	2	33	10	21	10	16
5° N411	0	0	0	1	0	5	6	6	3	2	1	12	1	0
6° N44	0	7	2	11	0	16	33	0	2	22	6	18	11	12
7° N414	0	2	0	2	0	5	11	0	2	10	0	0	1	8
8° N47	0	0	0	0	0	4	3	4	2	1	0	5	0	0
Colônia N6														
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
1° N61	0	0	6	0	0	3	11	0	1	21	45	9	4	11
2° N62	0	2	3	0	0	7	14	0	3	24	41	5	1	12
3° N63	0	2	4	0	0	11	5	0	5	17	19	15	3	12
4° N64	0	1	6	0	0	9	5	2	3	6	20	15	2	1
5° N65	0	1	4	1	0	10	4	1	1	17	21	18	2	6
6° N66	0	0	0	0	0	2	0	3	0	1	6	2	1	0
7° N67	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	1	1	0	0
8° N69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	10	1	0	0
9°N610	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	12	10	0	0
10°N68	0	1	2	1	0	29	1	31	1	5	16	12	1	1
Colônia N7														
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
1° N71	0	6	5	7	0	15	26	0	4	35	45	0	0	7
2° N72	0	4	2	4	0	12	20	1	2	17	29	0	1	7
3° N74	0	2	0	5	0	11	16	2	3	5	13	1	2	3
4° N73	0	4	1	6	0	13	9	1	3	15	27	0	0	3
5° N75	0	0	0	0	0	8	2	9	0	0	0	0	0	0
6° N76	0	0	0	0	0	3	0	4	0	0	1	0	0	0
7° N77	0	0	0	3	0	0	7	0	0	4	0	11	2	0
8° N78	0	0	0	2	0	0	1	0	0	2	0	11	1	0

Numeração dos comportamentos: (**1**) Postura de ovos; (**2**) Obtenção de alimento: (**2.1**) sólido e (**2.2**) líquido; (**3**) Trofaláxis adulto-larva; (**4**) Oofagia; (**5**) Distribuição de alimento para as larvas; (**6**) Grooming; (**7**) Coleta de alimento: (**7.1**) sólido e líquido e (**7.2**) Coleta de polpa vegetal; (**8**) Inspeção de células; (**9**) Local predominante ocupada no favo pelas fêmeas hierarquicamente superiores :(**9.1**) frente, (**9.2**) atrás ou (**9.3**) lateral do favo; e (**10**) Aplicação de substâncias secretoras no ninho (esfregação do gáster).

Tabela 26: Quantificação dos comportamentos observados nas colônias N10, N11 e N12 durante a subfase pré-macho na fase de pós-emergência de *Mischocyttarus cassununga*.

Frequência dos atos comportamentais observados														
Colônia N10														
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
1° N101	1	8	2	5	0	36	41	0	0	70	68	11	7	44
2° N102	0	5	1	2	0	36	32	1	1	34	29	50	12	19
3° N103	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0
4° N104	0	0	0	0	0	6	3	4	0	0	1	0	1	0
5° N105	0	0	0	0	0	10	4	7	0	0	0	2	0	0
N106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N107	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	5	0	0
N108	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	4	0	0
Colônia N11														
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
1° N01	1	2	1	47	2	8	24	0	2	63	52	5	36	47
2° N02	1	1	3	7	0	7	29	0	3	36	46	7	25	7
3° N03	0	0	1	5	0	12	16	5	0	9	34	9	22	5
4° N05	0	0	0	0	0	4	2	5	0	0	1	3	0	0
N04	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	4	0	1	0
N06	0	0	0	0	0	0	4	0	0	3	2	11	10	0
N07	0	0	1	6	0	10	4	3	0	8	16	13	22	6
N08	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	4	0
Colônia N12														
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
1° N201	1	0	4	3	0	4	16	0	0	62	66	0	5	40
2° N202	0	1	2	1	0	3	25	1	0	15	6	24	13	29
3° N203	0	0	3	1	0	6	6	2	0	18	10	15	18	21
4° N204	0	0	2	2	0	7	16	4	0	11	20	14	8	7
5° N205	0	1	0	0	0	8	3	8	0	0	2	8	1	0
6° N206	0	0	0	0	0	3	5	3	0	2	1	9	2	0
7° N207	0	0	1	0	0	3	2	3	0	0	1	0	0	0
8° N208	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	6	2	2
N209	0	0	0	0	0	2	1	2	0	0	0	1	0	1
N210	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
N211	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0

Numeração dos comportamentos: (**1**) Postura de ovos; (**2**) Obtenção de alimento: (**2.1**) sólido e (**2.2**) líquido; (**3**) Trofaláxis adulto-larva; (**4**) Oofagia; (**5**) Distribuição de alimento para as larvas; (**6**) Grooming; (**7**) Coleta de alimento: (**7.1**) sólido e líquido e (**7.2**) Coleta de polpa vegetal; (**8**) Inspeção de células; (**9**) Local predominante ocupada no favo pelas fêmeas hierarquicamente superiores :(**9.1**) frente, (**9.2**) atrás ou (**9.3**) lateral do favo; e (**10**) Aplicação de substâncias secretoras no ninho (esfregação do gáster).

Tabela 27: Quantificação dos comportamentos observados na colônia N13 durante a subfase pré-macho na fase de pré-emergência de *Mischocyttarus cassununga*.

Colônia N13	**Frequência dos atos comportamentais observados**													
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
1° N301	0	1	0	0	0	2	13	0	0	11	4	3	5	3
2° N302	0	2	0	0	0	5	10	0	0	17	8	9	4	2
3° N304	0	0	0	0	0	0	2	1	0	6	0	9	5	0
4° N305	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	4	0	0
N303	0	0	0	0	0	1	1	1	0	3	0	7	2	0
N311	0	0	0	0	0	0	3	0	1	5	5	1	0	0
N313	0	0	0	1	0	0	4	0	0	2	0	3	1	0
N312	0	1	0	1	0	3	3	0	0	4	1	6	1	2

Numeração dos comportamentos: (**1**) Postura de ovos; (**2**) Obtenção de alimento: (**2.1**) sólido e (**2.2**) líquido; (**3**) Trofaláxis adulto-larva; (**4**) Oofagia; (**5**) Distribuição de alimento para as larvas; (**6**) Grooming; (**7**) Coleta de alimento: (**7.1**) sólido e líquido e (**7.2**) Coleta de polpa vegetal; (**8**) Inspeção de células; (**9**) Local predominante ocupada no favo pelas fêmeas hierarquicamente superiores :(**9.1**) frente, (**9.2**) atrás ou (**9.3**) lateral do favo; e (**10**) Aplicação de substâncias secretoras no ninho (esfregação do gáster).

Tabela 28: Quantificação dos comportamentos observados nas colônias N5b e N8 durante a subfase pós-macho na fase de pós-emergência de *Mischocyttarus cassununga*.

	Frequência dos atos comportamentais observados													
Colônia N5b														
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
N51	4	13	9	5	1	42	81	0	11	105	88	29	27	75
N52	1	8	8	1	0	40	49	3	5	56	45	51	30	44
N53	0	1	4	0	0	36	38	13	7	21	6	36	14	19
N54	0	0	0	0	0	27	12	23	0	2	10	3	4	10
N55	0	1	4	0	0	32	24	9	4	17	17	12	11	18
N56-macho	0	0	2	0	0	1	1	0	0	4	8	0	0	0
Colônia N8														
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
1° N81	2	3	8	3	0	11	20	0	1	40	39	1	1	35
2° N82	0	0	1	4	0	8	6	7	2	10	17	7	5	13
3° N84	0	0	0	0	0	5	3	5	0	1	1	2	1	2
4° N83	0	0	0	1	0	2	4	3	0	0	3	0	2	0
5° N85	0	1	4	2	0	0	9	0	0	3	18	1	0	0

Numeração dos comportamentos: (**1**) Postura de ovos; (**2**) Obtenção de alimento: (**2.1**) sólido e (**2.2**) líquido; (**3**) Trofaláxis adulto-larva; (**4**) Oofagia; (**5**) Distribuição de alimento para as larvas; (**6**) Grooming; (**7**) Coleta de alimento: (**7.1**) sólido e líquido e (**7.2**) Coleta de polpa vegetal; (**8**) Inspeção de células; (**9**) Local predominante ocupada no favo pelas fêmeas hierarquicamente superiores :(**9.1**) frente, (**9.2**) atrás ou (**9.3**) lateral do favo; e (**10**) Aplicação de substâncias secretoras no ninho (esfregação do gáster).

Tabela 29: Quantificação dos comportamentos observados nas colônias N9 e N14 durante a subfase pré-macho na fase de pós-emergência de *Mischocyttarus cassununga*.

Frequência dos atos comportamentais observados														
Colônia N9														
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
1° N91	0	1	2	4	0	4	8	0	0	27	41	0	2	0
2° N92	0	5	1	9	0	10	12	0	0	24	34	0	2	8
3° N94	0	5	2	7	0	8	9	0	0	17	29	1	4	3
4° N93	0	0	1	6	0	2	13	0	1	16	22	3	8	6
5° N95	0	1	4	4	0	7	5	1	1	13	17	0	5	0
6° N96	0	0	0	0	0	8	4	5	0	1	1	1	0	0
7° N98	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0
8° N97	0	0	0	1	0	11	4	10	0	6	3	2	1	0
Colônia N14														
Fêmeas	**1**	**2.1**	**2.2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7.1**	**7.2**	**8**	**9.1**	**9.2**	**9.3**	**10**
a3	0	1	11	0	0	1	22	0	0	43	4	1	1	7
b1	0	0	1	0	0	5	5	10	0	1	1	0	1	0
c2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
a6	0	0	4	0	0	2	0	2	0	0	1	2	1	0
c1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
b2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
d1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
d2	0	0	0	0	0	1	1	2	0	2	1	0	0	0
d3	0	0	0	0	0	2	1	1	0	6	1	1	2	2
a4	0	2	2	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
a5	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0
a1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	5	1	2	0	0
a2	0	2	2	0	0	0	4	1	0	0	0	1	0	0

Numeração dos comportamentos: (**1**) Postura de ovos; (**2**) Obtenção de alimento: (**2.1**) sólido e (**2.2**) líquido; (**3**) Trofaláxis adulto-larva; (**4**) Oofagia; (**5**) Distribuição de alimento para as larvas; (**6**) Grooming; (**7**) Coleta de alimento: (**7.1**) sólido e líquido e (**7.2**) Coleta de polpa vegetal; (**8**) Inspeção de células; (**9**) Local predominante ocupada no favo pelas fêmeas hierarquicamente superiores :(**9.1**) frente, (**9.2**) atrás ou (**9.3**) lateral do favo; e (**10**) Aplicação de substâncias secretoras no ninho (esfregação do gáster).

a.3) Análise estatística e comportamental em *Mischocyttarus cassununga*

A análise de Correlação de postos de Spearman ($p < 0,05$) mostrou que existe uma correlação positiva significativa entre as variáveis Id e a frequência de inspeção de células da fêmea nas colônias N4, N5, N7, N8, N9 e N13, mas não nas colônias N6, N10, N11 e N12 (Tabelas 30 e 31). Isso mostra que, de maneira geral, as fêmeas dominantes são as principais responsáveis na vigilância da sua própria prole. Embora, nas colônias onde o resultado não foi significativo, a tendência de uma correlação positiva é evidente.

Os resultados também mostram que existe uma forte correlação positiva entre o Id e o comportamento de esfregar o gáster no ninho em grande parte das colônias (N4, N5, N7, N8, N11, N12 e N13), com exceção das colônias N6, N9, N10 e N14, ou seja, as fêmeas dominantes também tendem a esfregar o gáster no ninho com maior frequência do que as outras fêmas da colônia (Tabelas 30 e 31).

Uma análise de correlação de Spearman também foi realizada entre os comportamentos de inspeção de células e de esfregar o gáster no ninho, onde foi obtido uma correlação significantemente positiva para a maior parte das colônias (N4, N5, N6, N7, N8, N10, N11, N13 e N14), com exceção das colônias N9 e N12. Isto foi feito para reforçar as afirmações anteriores sobre a maior frequência dos dois comportamentos por parte das fêmeas mais dominantes (Tabelas 30 e 31).

Por outro lado, os resultados sobre a correlação de Spearman entre o Id e a frequência na atividade de forrageamento apresentaram uma correlação negativa significante nas colônias N9 e N10, sendo que nas colônias N4, N6, N12 e N13 houve correlação negativa, mas não significativa (Tabelas 30 e 31). Na colônia N8 foi obtido uma correlação positiva e significativa dessas duas variáveis, e uma correlação positiva não significativa nas colônias N5b, N7, N11 e N14.

Por fim, foi realizada uma análise de correlação entre o Id e a frequência total de comportamentos intranidais realizados pelas fêmeas na colônia. Estes resultados mostraram que na maioria das colônias, com exceção de N6, N10, N12 e N14 (todas durante a subfase pré-macho), existe uma correlação positiva entre o índice de dominância e a frequência de comportamentos intranidais realizados pela fêmea dentro da hierarquia social.

Com base no índice de dominância dos indivíduos, pode-se notar que, aparentemente não existem diferenças comportamentais relacionadas à distribuição das tarefas durante a ontogenia colonial (entre as subfases pré-macho e pós-macho) da espécie.

Tabela 30: Análise de correlação de postos de Spearman das colônias N4, N6, N7, N10 e N11 na subfase pré-macho durante a fase de pós-emergência em *M. cassununga*. (Comp.: comportamento) (*valor significativo, p < 0,05); FT: Frequência total de comportamentos intranidais.

Colônia	**N**	**Variáveis**	**R**	***P***
N4	8	Id x Comp. 13	0,9048	*0,002
		Id x Comp. 20	0,8743	*0,004
		Comp. 13 x Comp. 20	0,9940	*0,000001
		Id x Comp. 17	-0,0123	0,9
		Id x FT	0,9121	*0,001
N6	9	Id x Comp. 13	0,1795	0,6
		Id x Comp. 20	0,1956	0,6
		Comp. 13 x Comp. 20	0,9126	*0,0005
		Id x Comp. 17	-0,0689	0,8
		Id x FT	0,2212	0,5
N7	8	Id x Comp. 13	0,9187	*0,001
		Id x Comp. 20	0,9864	*0,000006
		Comp. 13 x Comp. 20	0,9314	*0,0007
		Id x Comp. 17	0,1569	0,7
		Id x FT	0,9132	*0,001
N10	5	Id x Comp. 13	0,6882	0,1
		Id x Comp. 20	0,6882	0,1
		Comp. 13 x Comp. 20	1,00	*
		Id x Comp. 17	-0,9747	*0,004
		Id x FT	0,3590	0,5
N11	5	Id x Comp. 13	0,7631	0,1
		Id x Comp. 20	0,9177	*0,02
		Comp. 13 x Comp. 20	0,9177	*0,02
		Id x Comp. 17	0,6316	0,2
		Id x FT	0,9746	*0,004

Continuação da tabela 30.

Colônia	**N**	**Variáveis**	**R**	***P***
N12	6	Id x Comp. 13	0,7143	0,1
		Id x Comp. 20	0,8451	*0,03
		Comp. 13 x Comp. 20	0,7775	0,06
		Id x Comp. 17	-0,2070	0,6
		Id x FT	0,7537	0,08
N13	8	Id x Comp. 13	0,9002	*0,0009
		Id x Comp. 20	0,7235	*0,02
		Comp. 13 x Comp. 20	0,8233	*0,006
		Id x Comp. 17	-0,1838	0,6
		Id x FT	0,9707	*0,00001

N- número de indivíduos; Id- Índice de dominância; Comp. 13- Inspeção de células; Comp. 20- Esfregar o gáster; Comp. 17- Atividade de forrageamento; R- coeficiente da correlação

Tabela 31: Análise de correlação de postos de Spearman das colônias N5b, N8, N9 e N14 na subfase pós-macho durante a fase de pós-emergência em *M. cassununga*. (Comp.: comportamento) (*valor significativo, $p < 0,05$); FT: Frequência total de comportamentos intranidais.

Colônia	**N**	**Variáveis**	**R**	***P***
N5b	7	Id x Comp. 13	0,9063	*0,004
		Id x Comp. 20	0,9145	*0,003
		Comp. 13 x Comp. 20	0,9369	*0,001
		Id x Comp. 17	0,0596	0,8
		Id x FT	0,9063	*0,004
N8	9	Id x Comp. 13	0,74	*0,02
		Id x Comp. 20	0,9219	*0,0004
		Comp. 13 x Comp. 20	0,8460	*0,004
		Id x Comp. 17	0,88	*0,001
		Id x FT	0,8199	*0,006
N9	6	Id x Comp. 13	1,00	*
		Id x Comp. 20	0,3339	0,5
		Comp. 13 x Comp. 20	0,3339	0,5
		Id x Comp. 17	-0,9411	*0,005
		Id x FT	0,9428	*0,004
N14	13	Id x Comp. 13	0,51	0,2
		Id x Comp. 20	0,12	0,7
		Comp. 13 x Comp. 20	0,66	*0,01
		Id x Comp. 17	0,32	0,6
		Id x FT	0,14	0,07

N- número de indivíduos; Id- Índice de dominância; Comp. 13- Inspeção de células; Comp. 20- Esfregar o gáster; Comp. 17- Atividade de forrageamento; R- coeficiente da correlação

b) Análise morfofisiológica das fêmeas de *Mischocyttarus cassununga*

Os resultados obtidos no estudo morfofisiológico da presente espécie (Tabelas 32 e 33) mostram que, em geral, as fêmeas mais dominantes também são os indivíduos reprodutivamente dominantes (fêmeas inseminadas) e relativamente mais velhos (pigmentação preta da linha transversal do 3^{o} tergito – Figura 3), apresentando um padrão ovariano A (Figura 4), com elevada (bastante) ou considerável (média) quantidade de corpo gorduroso no interior do gáster, assim como, também geralmente apresentam um maior desenvolvimento relativo da glândula de Van der Vecht (Figura 6), com exceção das colônias N5 e N8 na subfase pós-macho (Tabela 33).

As fêmeas hierarquicamente superiores, logo abaixo da fêmea mais dominante no ranking da hierarquia (2^{a} e 3^{a} posições), geralmente também são as mais velhas da colônia (com exceção das colônias N5b, N6, N9, N12) (Tabelas 32 e 33), entretanto, somente a 2^{a} fêmea dominante quase sempre possui um relativo desenvolvimento do ovário (com exceção das colônias N10, N11 e N13) (Tabela 32). A presença de mais de uma fêmea inseminada apta a gerar uma prole 2n na colônia foi constatada na maior parte das colônias (com exceção das colônias N7, N11 e N13) (Tabelas 32 e 33), onde as fêmeas hierarquicamente superiores da 2^{a} posição no ranking geralmente eram os outros indivíduos inseminados. Na colônia N8 (Tabela 33), as quatro primeiras fêmeas do ranking apresentaram a espermateca contendo espermatozóides (Figura 5), e na colônia N12 (Tabela 32), as três primeiras fêmeas.

Além dos padrões de desenvolvimento ovariano A e B das fêmeas inseminadas, também constatou-se fêmeas inseminadas com o padrão C (Colônias N5b, N6 e N10) (Tabelas 32 e 33; Figura 4), onde duas delas apresentaram uma idade relativa maior em suas colônias, enquanto a outra apresentou uma idade relativa menor. Não foram encontradas fêmeas com padrões D e E de desenvovimento ovariano inseminadas, e nenhum ovário do tipo filamentoso (sem a presença de ovócitos e células nutridoras).

Em relação ao desenvolvimento da glândula de Van der Vecht (Figura 6), observou-se que as fêmeas mais dominantes da colônia, geralmente possuem um maior desenvolvimento deste órgão (com exceção das colônias N5b, N8 e N13) (Tabelas 32 e 33).

A quantidade relativa de corpo gorduroso presente no interior do gáster também mostrou uma aparente relação com o desenvolvimento do ovário, ou seja, as fêmeas com um maior desenvolvimento deste órgão reprodutivo concomitantemente apresentaram um maior acúmulo deste corpo no gáster (Tabelas 32 e 33).

Tabela 32: Parâmetros morfofisiológicos das fêmeas coletadas nas subfases pré-macho durante a fase de pós-emergência em *M. cassununga.*

Colônia	Subfase	Fêmea	Ranking	I/NI	D.O.	I.R.	GVdV	C.G.
N4	Pré	N41	1	sim	A	preto	bastante	bastante
		N42	2	sim	B	preto	bastante	bastante
		N45	3	não	E	preto	médio	pouco
		N43	4	não	B	preto	médio	médio
		N411	5	não	E	preto	médio	pouco
		N44	6	não	C	amarelo	médio	bastante
		N414	7	não	D	amarelo	pouco	médio
		N47	8	não	E	amarelo	medio	médio
N6	Pré	N61	1	sim	A	preto	bastante	médio
		N62	2	sim	A	preto	bastante	médio
		N63	3	não	E	amarelo	pouco	pouco
		N64	4	sim	C	cast claro	bastante	médio
		N65	5	não	E	cast escuro	pouco	pouco
		N66	6	não	E	cast escuro	médio	médio
		N67	7	não	E	cast escuro	pouco	pouco
		N69	8	não	E	preto	pouco	pouco
		N610	9	não	E	amarelo	pouco	pouco
N7	Pré	N71	1	sim	A	preto	bastante	bastante
		N72	2	não	B	preto	médio	bastante
		N74	3	não	E	cast claro	pouco	pouco
		N73	4	não	D	cast escuro	médio	pouco
		N75	5	não	E	amarelo	pouco	pouco
		N76	6	não	E	amarelo	pouco	pouco
		N77	7	não	E	amarelo	pouco	pouco
		N78	8	não	E	amarelo	pouco	médio
N10	Pré	N101	1	sim	A	preto	pouco	médio
		N102	2	sim	C	preto	pouco	médio
		N104	3	nao	D	cast claro	pouco	pouco
		N107	4	nao	E	amarelo	pouco	pouco
		N108	5	nao	E	amarelo	pouco	pouco
N11	Pré	N01	1	sim	A	preto	médio	bastante
		N02	2	não	C	cast escuro	médio	bastante
		N03	3	não	D	cast claro	médio	bastante
		N05	4	não	E	cast claro	pouco	pouco
		N04	5	não	E	amarelo	pouco	pouco
		N06	6	nao	D	amarelo	pouco	pouco

Continuação da tabela 32.

Colônia	Subfase	Fêmea	Ranking	I/NI	D.O.	I.R.	GVdV	C.G.
N12	Pré	N201	1	sim	A	preto	bastante	bastante
		N202	2	sim	A	cast escuro	bastante	médio
		N203	3	sim	B	cast escuro	médio	médio
		N204	4	não	C	amarelo	médio	bastante
		N205	5	não	B	preto	médio	médio
		N207	6	não	E	preto	pouco	pouco
		N208	7	não	E	amarelo	pouco	pouco
		N209	8	não	E	preto	pouco	pouco
		N212	9	não	E	amarelo	pouco	pouco
N13	Pré	N301	1	sim	B	preto	médio	bastante
		N302	2	não	C	preto	bastante	médio
		N304	3	não	D	amarelo	pouco	médio
		N305	4	não	E	amarelo	pouco	médio
		N303	5	não	E	amarelo	pouco	pouco
		N306	6	não	E	amarelo	pouco	pouco

I/NI: Inseminada/Não inseminada; DO: Desenvolvimento ovariano; IR: Idade relativa; GVdV: Glândula de Van der Vecht; CG: Corpo gorduroso.

Tabela 33: Parâmetros morfofisiológicos das fêmeas coletadas na subfase pós-macho durante a fase de pós-emergência em *M. cassununga.*

Colônia	Subfase	Fêmea	Ranking	I/NI	D.O.	I.R.	GVdV	C.G.
N5a	Pós	X1	1	sim	C	preto	bastante	médio
		X2	2	sim	B	preto	pouco	pouco
		X3	3	não	D	cast claro	médio	médio
N5b	Pós	N51	1	sim	A	preto	médio	médio
		N52	2	sim	B	preto	médio	médio
		N53	3	não	D	amarelo	bastante	bastante
		N54	4	não	D	amarelo	bastante	médio
		N55	5	não	E	amarelo	médio	médio
		N57	6	não	E	amarelo	pouco	pouco
		N58	7	não	E	cast claro	pouco	médio
N8	Pós	N81	1	sim	A	preto	pouco	bastante
		N82	2	sim	B	preto	médio	bastante
		N84	3	sim	B	preto	bastante	bastante
		N83	4	sim	B	preto	bastante	bastante
		N87	5	não	E	preto	médio	pouco
		N88	6	não	E	preto	médio	pouco
		N89	7	não	E	preto	bastante	pouco
		N81	8	não	E	amarelo	médio	pouco
		N811	9	não	D	preto	médio	médio
N9	Pós	N91	1	sim	A	preto	bastante	médio
		N92	2	sim	A	amarelo	médio	médio
		N94	3	nao	B	amarelo	médio	pouco
		N93	4	nao	B	preto	médio	médio
		N95	5	nao	C	cast claro	médio	médio
		N97	6	nao	E	amarelo	pouco	pouco

I/NI: Inseminada/Não inseminada; DO: Desenvolvimento ovariano; IR: Idade relativa; GVdV: Glândula de Van der Vecht; CG: Corpo gorduroso. **Obs:** Os aspectos morfofisiológicos da colônia N5 estão representados separadamente em duas partes porque esta se dividiu durante as observações finais na subfase pós-macho na fase de pós-emergência.

c) Estudo dos hidrocarbonetos cuticulares em *Mischocyttarus cassununga*

A análise dos compostos cuticulares da espécie *Mischocyttarus cassununga* resultou em um total de 88 compostos detectados, sendo 84 identificados e 4 não identificados (Tabela 34). A totalidade das substâncias encontradas foi representada por hidrocarbonetos, divididos entre alcanos saturados lineares e não lineares. Esses compostos pouco voláteis apresentam cadeias longas que variam de 16 a 36 átomos de carbono. Considerando toda a amostra, os alcanos encontrados em maior concentração relativa para a maior parte das colônias analisadas foram o Heptacosano (C27), 3-Metilheptacosano, Nonacosano (C29), 9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano, 3-Metilnonacosano, 11, 16-Dimetilhentriacontano.

Foi possível agrupar os compostos em alcanos lineares, alcanos ramificados com radical metil, alcanos ramificados com dimetil, alcanos ramificados com etil e "alcanos" não identificados, onde o número de compostos e a porcentagem relativa foi respectivamente de 17 alcanos lineares (14,65%), 42 metilalcanos (36,20%), 38 dimetilalcanos (32,75%), 15 etilalcanos (12,92%) e 4 compostos presentes na cutícula (3,48%) que não puderam ser identificados por apresentarem o espectro incompleto (Figura 7).

A tabela 34 apresenta os valores da média e do desvio padrão (M ± DP) da concentração relativa, de cada substância encontrada nas fêmeas da espécie. A quantidade de compostos que contribuem com uma concentração relativa maior que 1% no perfil cuticular da fêmea na colônia é relativamente menor do que o total de hidrocarbonetos encontrados na espécie. Estes compostos cuticulares foram o heptacosano (C27), 7, 16-dimetilheptacosano, 3-metilheptacosano, nonacosano (C29), 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 7-metilnonacosano, 11, 15-dimetilnonacosano, 9, 15 e 9, 16-dimetilnonacosano, 7, 15 e 7, 18-dimetilnonacosano, 3-metilnonacosano, 13, 15-dimetilnonacosano, 11 e 13 e 14 e 15-detiltriacontano, 11, 15-dimetiltriacontano, 9 e 11 e 13 e 15-metilhentriacontano, 7-metilhentriacontano, 11, 16-

dimetilhentriacontano, 9, 21-dimetilhentriacontano, 7, 19 e 7, 16-dimetilhentriacontano, 5, 17-dimetilhentriacontano, 15, 16-dimetilhentriacontano. Na figura 8, através do cromatograma do perfil químico de uma fêmea da espécie, pode-se perceber que os maiores picos são das substâncias cuticulares mais relevantes no presente estudo.

Tabela 34: Tempo de retenção (minutos) e valores da média e desvio padrão dos compostos cuticulares detectados nos indivíduos coletados nas subfases pré-macho e pós-macho durante a fase de pós-emergência em *M. cassununga.* (M ± DP: Média e Desvio Padrão).

Picos	**Tempo de retenção**	**Compostos**	**M ± DP**
1	5.90	Hexadecano (C16)	0,302 ± 0,231
2	7.86	Heptadecano (C17)	0,045 ± 0,035
3	10.10	Octadecano (C18)	0,018 ± 0,015
4	12.62	Nonadecano (C19)	0,021 ± 0,017
5	15.31	Eicosano (C20)	0,021 ± 0,017
6	18.08	Heneicosano (C21)	0,036 ± 0,062
7	20.82	Docosano (C22)	0,025 ± 0,018
8	22.79	11-Metildocosano	0,007 ± 0,014
9	23.55	Tricosano (C23)	0,109 ± 0,153
10	24.56	9-Metiltricosano	0,015 ± 0,041
11	26.22	Tetracosano (C24)	0,029 ± 0,048
12	28.81	Pentacosano (C25)	0,567 ± 0,744
13	29.72	9-Metilpentacosano	0,046 ± 0,100
14	29.80	7-Metilpentacosano	0,006 ± 0,014
15	30.64	3-Metilpentacosano	0,034 ± 0,044
16	31.30	Hexacosano (C26)	0,237 ± 0,282
17	32.71	4-Metilhexacosano	0,228 ± 1,751
18	33.09	3-Metilhexacosano	0,062 ± 0,062
19	33.78	Heptacosano (C27)	7,774 ± 8,000
20	34.50 - 34.56	11 e 13-Metilheptacosano	0,780 ± 0,811
21	34.59	9-Metilheptacosano	0,151 ± 0,246
22	34.70	7-Metilheptacosano	0,299 ± 0,258
23	34.93	5-Metilheptacosano	0,094 ± 0,084
24	35.33	7, 16-Dimetilheptacosano	1,174 ± 1,387
25	35.51	3-Metilheptacosano	7,816 ± 5,636
26	35.68	5, 17-Dimetilheptacosano	0,009 ± 0,047
27	36.13	Octacosano (C28)	0,806 ± 0,711
28	36.20	7-Etilheptacosano	0,294 ± 0,850
29	36.78 - 36.88	9 e 11 e 13-Metiloctacosano	0,444 ± 0,235
30	37.01	7-Metiloctacosano	0,051 ± 0,081
31	37.12	6-Metiloctacosano	0,030 ± 0,041
32	37.41	4-Metiloctacosano	0,755 ± 0,531
33	37.62	7, 17-Dimetiloctacosano	0,053 ± 0,063
34	37.78	3-Metiloctacosano	0,181 ± 0,010
35	38.10	11, 16-Dimetiloctacosano	0,081 ± 0,147
36	38.40	Nonacosano (C29)	5,949 ± 6,112

Continuação da tabela 34.

Picos	Tempo de retenção	Compostos	M ± DP
37	39.07 - 39.25	9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	12,924 ± 6,365
38	39.32	7-Metilnonacosano	4,597 ± 2,818
39	39.50	5-Metilnonacosano	0,340 ± 0,162
40	39.67	11, 15-Dimetilnonacosano	2,530 ± 2,071
41	39.71 - 39.83	9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	3,024 ± 2,859
42	39.87 - 39.93	7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	1,594 ± 1,192
43	39.95	7, 21-Dimetilnonacosano	0,420 ± 1,230
44	40.06	3-Metilnonacosano	7,899 ± 6,134
45	40.20	5, 17-Dimetilnonacosano	0,636 ± 1,324
46	40.35 - 40.44	6 e 8 e 11 e 14-Etilnonacosano	0,187 ± 0,203
47	40.48 - 40.50	10 e 15-Etilnonacosano	0,035 ± 0,077
48	40.59 - 40.70	13, 15-Dimetilnonacosano	3,455 ± 5,237
49	40.71	8, x-Dimetilnonacosano	0,512 ± 1,498
50	41.24 - 41.35	11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	1,749 ± 1,709
51	41.48	7-Metiltriacontano	0,050 ± 0,235
52	41.54	6-Metiltriacontano	0,030 ± 0,035
53	41.79	11, 15-Dimetiltriacontano	1,567 ± 0,778
54	42.05	3-Metiltriacontano	0,021 ± 0,045
55	42.16	6, 16-Dimetiltriacontano	0,035 ± 0,048
56	42.28	13, 17-Dimetiltriacontano	0,073 ± 0,117
57	42.44	4, 16-Dimetiltriacontano	0,670 ± 1,173
58	42.77	Hentriacontano (C31)	0,304 ± 0,362
59	42.96 - 43.09	8 e 10 e 14-Etiltriacontano	0,158 ± 0,246
60	43.37	9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	3,652 ± 1,919
61	43.59	7-Metilhentriacontano	1,920 ± 1,012
62	43.95	11, 16-Dimetilhentriacontano	14,663 ± 9,859
63	44.10	9, 21-Dimetilhentriacontano	1,184 ± 2,073
64	44.16 - 44.25	7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	1,439 ± 1,356
65	44.34	3-Metilhentriacontano	0,677 ± 1,032
66	44.42	5, 17-Dimetilhentriacontano	1,209 ± 2,105
67	44.51 - 44.88	10 e 15-Etilhentriacontano	0,342 ± 0,334
68	45.00	15, 16-Dimetilhentriacontano	0,972 ± 1,483
69	45.15	8-Metildotriacontano	0,047 ± 0,105
70	45.60 - 45.72	15, 16 e 15, 17-Dimetildotriacontano	0,382 ± 0,392
71	45.77	8, 16 e 8, 18-Dimetildotriacontano	0,251 ± 0,456
72	46.26	11, 17-Dimetildotriacontano	0,359 ± 0,333
73	46.69	6, 18-Dimetildotriacontano	0,042 ± 0,081

Continuação da tabela 34.

Picos	Tempo de retenção	Compostos	M ± DP
74	47.07	4, 16-Dimetildotriacontano	0,038 ± 0,078
75	48.33 - 48.41	11, 17 e 15, 17-Dimetiltritriacontano	0,117 ± 0,130
76	48.75	7-Metiltritriacontano	0,107 ± 0,126
77	49.12 - 49.45	11, 18 e 15, 18-Dimetiltritriacontano	0,389 ± 0,340
78	49.55 - 49.66	7, 18 e 7, 19-Dimetiltritriacontano	0,276 ± 0,420
79	49.91	5, 17-Dimetiltritriacontano	0,058 ± 0,095
80	50.78	*Não identificado*	0,053 ± 0,102
81	51.60	Tetratriacontano (C34)	0,007 ± 0,014
82	51.84	8, 18 e 10, 18-Dimetiltetratriacontano	0,135 ± 0,263
83	52.64	*Não identificado*	0,036 ± 0,044
84	53.93	*Não identificado*	0,008 ± 0,017
85	55.16	*Não identificado*	0,009 ± 0,025
86	55.51	16-Etiltetratriacontano	0,099 ± 0,107
87	56.88	14-Etiltetratriacontano	0,047 ± 0,058
88	57.71	6-Etiltetratriacontano	0,060 ± 0,120

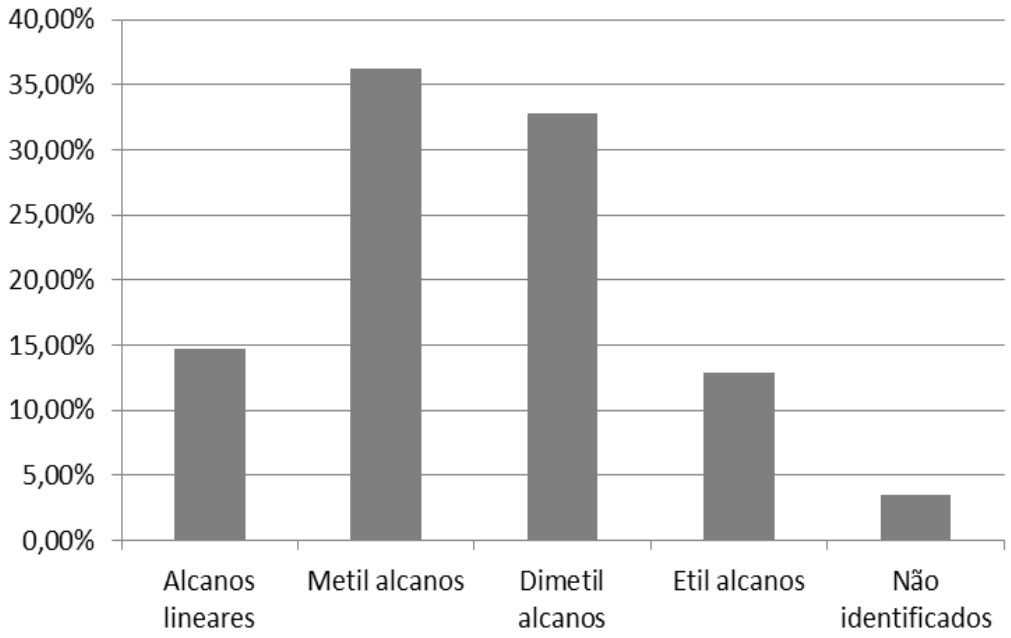


Figura 7. Porcentagem do número de compostos encontrados em uma população da espécie *M. cassununga*.

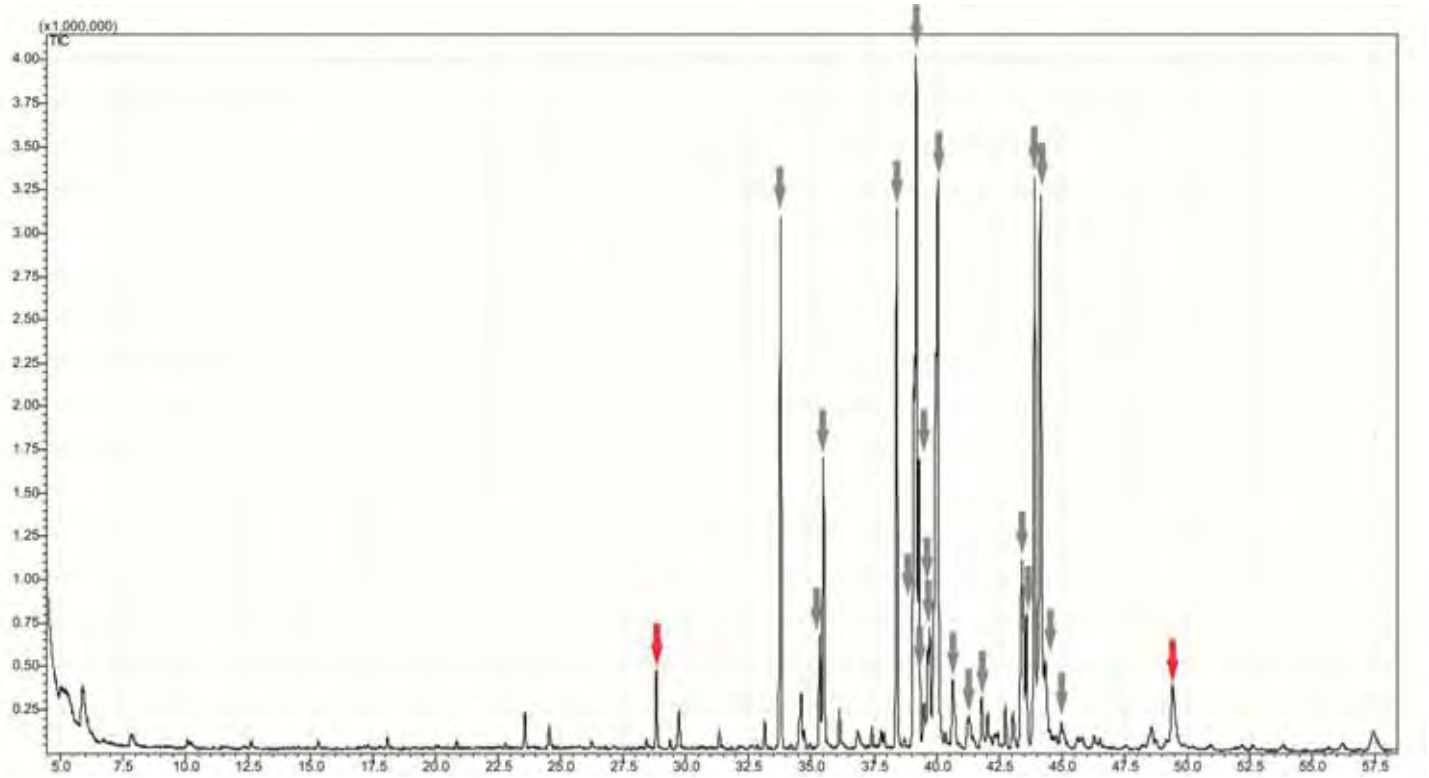


Figura 8. Cromatograma (TIC = cromatograma de íons totais x RT = tempo de retenção) do perfil químico da espécie de vespa eussocial basal *M. cassununga.* (V. Apêndice)

Compostos selecionados para análise estatística.

Picos de contaminação (todos foram retirados da amostra e os valores das concentrações relativas foram recalculados).

c.1) Comparação dos perfis químicos entre as colônias de *Mischocyttarus cassununga*

O resultado da análise discriminante *stepwise* dos compostos cuticulares mostrou que é possível separar significativamente grande parte dos grupos analisados (Modelo global: Wilks's λ =0.0057, $F_{(165,557)}$ =2.64, $p < 0.00001$) (Tabelas 35 a 37). A MANOVA revelou que existe uma diferença significativa entre os perfis cuticulares das colônias estudadas (F= 928.73, p= 0.0000001).

A tabela 38 apresenta os resultados da análise canônica para todas as combinações possíveis entre as colônias, onde algumas poucas comparações (19,6%) com base na proporção dos hidrocarbonetos não foram significativas.

Ainda, de acordo com a análise discriminante (Figura 9), as diferenças foram baseadas em um contraste entre os compostos heptacosano (C27), 3-metilheptacosano, 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 7, 15 e 7, 18-dimetilnonacosano, 13, 15-dimetilnonacosano, e 11, 16-dimetilhentriacontano. A Figura 9 mostra a grande variação existente entre as concentrações dos compostos das colônias e inclusive nas fêmeas co-específicas. Nota-se também que os grupos G2 e G3 de fêmeas das colônias N5a e N5b apresentaram uma certa similaridade na concentração, o que pode ser visto pela proximidade das medianas em todas as concentrações de ambos.

Através da análise canônica, a classificação da matriz mostrou um total de 73,25% de correta alocação dos indivíduos dentro do grupo (= colônia) esperado (Figura 10).

Tabela 35: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas de diferentes colônias (Colônia N4 a N6) em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 8**	***G2*** **N= 3**	***G3*** **N= 7**	***G4*** **N= 9**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	**33.78**	**5,23 ± 4,70**	**7,02 ± 5,46**	**13,39 ± 12,02**	**13,77 ± 9,65**
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	1,47 ± 0,66	2,27 ± 2,66	0,92 ± 0,68	1,94 ± 2,08
3-Metilheptacosano	**35.51**	**9,58 ± 3,20**	**17,91 ± 15,10**	**14,70 ± 10,08**	**7,96 ± 4,25**
Nonacosano (C29)	38.40	2,63 ± 1,53	3,11 ± 3,23	4,82 ± 3,82	8,30 ± 6,54
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**8,24 ± 2,91**	**8,23 ± 7,50**	**8,50 ± 5,88**	**10,31 ± 4,31**
7-Metilnonacosano	39.32	3,32 ± 2,60	3,99 ± 4,06	3,74 ± 3,93	4,61 ± 2,93
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	1,69 ± 0,93	1,97 ± 3,01	2,25 ± 1,56	2,01 ± 0,94
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	3,12 ± 1,67	5,99 ± 6,40	2,16 ± 1,55	2,81 ± 1,58
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	**39.87 - 39.93**	**0,82 ± 0,99**	**0,99 ± 0,90**	**0,78 ± 0,73**	**1,17 ± 1,21**
3-Metilnonacosano	40.06	6,03 ± 2,34	11,11 ± 13,22	10,46 ± 8,81	8,32 ± 3,65
13, 15-Dimetilnonacosano	**40.59 - 40.70**	**9,02 ± 6,47**	**3,98 ± 5,02**	**5,53 ± 4,94**	**1,94 ± 3,62**
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	3,89 ± 2,70	2,30 ± 2,72	2,34 ± 1,84	0,95 ± 1,44
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,15 ± 0,74	1,90 ± 0,79	1,09 ± 0,43	1,28 ± 0,76
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	2,70 ± 0,95	2,64 ± 2,35	2,79 ± 2,26	2,51 ± 1,61
7-Metilhentriacontano	43.59	1,32 ± 1,12	1,32 ± 0,99	1,09 ± 0,89	2,22 ± 1,23
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**8,64 ± 7,71**	**8,78 ± 10,31**	**6,80 ± 6,04**	**12,43 ± 7,63**
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,47 ± 0,43	0,31 ± 0,37	0,26 ± 0,27	1,67 ± 3,22
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	2,42 ± 0,69	1,13 ± 1,01	2,10 ± 1,01	1,27 ± 2,04
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	4,66 ± 2,20	1,57 ± 1,99	1,62 ± 2,10	0,72 ± 1,69
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	2,54 ± 1,41	1,10 ± 1,55	1,47 ± 1,44	0,54 ± 1,09

Caracterização dos grupos: *G1*- colônia N4, *G2*- colônia N5a, *G3*- colônia N5b, *G4*- colônia N6, *G5*- colônia N7, *G6*- colônia N8, *G7*- colônia N9, *G8*- colônia N10, *G9*- colônia N11, *G10*- colônia N12, *G11*- colônia N13, *G12*- colônia N14.

Tabela 36: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas de diferentes colônias (Colônias N7 a N10) em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G5*** **N= 8**	***G6*** **N= 9**	***G7*** **N= 6**	***G8*** **N= 5**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	**33.78**	**6,17 ± 5,13**	**18,66 ± 10,39**	**2,77 ± 1,68**	**2,38 ± 1,53**
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	1,25 ± 2,07	1,23 ± 1,27	0,72 ± 0,50	0,64 ± 0,43
3-Metilheptacosano	35.51	10,39 ± 2,23	8,14 ± 2,77	2,81 ± 0,52	2,48 ± 0,90
Nonacosano (C29)	38.40	2,00 ± 1,06	16,03 ± 10,34	5,63 ± 1,41	7,03 ± 3,46
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**10,11 ± 3,90**	**7,95 ± 5,41**	**17,35 ± 1,49**	**22,19 ± 5,63**
7-Metilnonacosano	39.32	3,29 ± 2,94	2,74 ± 1,53	4,37 ± 0,67	6,83 ± 2,28
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	3,80 ± 5,60	2,39 ± 1,39	3,01 ± 1,01	1,95 ± 1,38
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	4,67 ± 7,49	2,23 ± 1,80	2,23 ± 0,39	1,82 ± 1,06
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	**39.87 - 39.93**	**1,23 ± 0,80**	**1,38 ± 1,32**	**2,02 ± 0,43**	**1,48 ± 1,36**
3-Metilnonacosano	40.06	6,25 ± 3,27	11,42 ± 7,59	7,34 ± 1,76	6,60 ± 2,57
13, 15-Dimetilnonacosano	**40.59 - 40.70**	**9,64 ± 6,54**	**0,63 ± 0,20**	**0,61 ± 0,14**	**0,41 ± 0,19**
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	3,34 ± 1,88	0,45 ± 0,32	1,44 ± 0,30	1,14 ± 0,51
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,13 ± 0,42	1,24 ± 0,67	2,45 ± 0,74	1,35 ± 0,91
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	3,02 ± 1,28	1,76 ± 1,29	5,87 ± 0,20	6,24 ± 0,92
7-Metilhentriacontano	43.59	0,99 ± 0,69	2,45 ± 0,84	2,49 ± 0,49	3,60 ± 0,12
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**6,65 ± 2,80**	**9,92 ± 7,73**	**25,83 ± 8,31**	**16,68 ± 9,32**
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,27 ± 0,18	0,41 ± 0,55	1,31 ± 0,34	4,41 ± 4,39
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	3,04 ± 2,19	0,49 ± 0,57	1,71 ± 1,59	0,93 ± 0,53
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	3,55 ± 2,54	0,11 ± 0,19	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,13
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	2,53 ± 1,98	0,12 ± 0,08	0,20 ± 0,09	0,14 ± 0,10

Caracterização dos grupos: *G1*- colônia N4, *G2*- colônia N5a, *G3*- colônia N5b, *G4*- colônia N6, *G5*- colônia N7, *G6*- colônia N8, *G7*- colônia N9, *G8*- colônia N10, *G9*- colônia N11, *G10*- colônia N12, *G11*- colônia N13, *G12*- colônia N14.

Tabela 37: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas de diferentes colônias (Colônias N11 a N14) em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G9*** **N= 5**	***G10*** **N= 6**	***G11*** **N= 9**	***G12*** **N= 11**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	**33.78**	**3,58 ± 1,33**	**5,32 ± 3,41**	**3,85 ± 1,74**	**5,24 ± 3,72**
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,79 ± 0,70	0,67 ± 0,57	0,48 ± 0,25	1,59 ± 1,97
3-Metilheptacosano	**35.51**	**4,02 ± 0,84**	**8,77 ± 1,62**	**4,46 ± 1,95**	**6,26 ± 2,37**
Nonacosano (C29)	38.40	4,63 ± 1,95	2,97 ± 2,08	3,56 ± 1,62	6,42 ± 6,30
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**21,41 ± 4,08**	**14,45 ± 4,24**	**16,54 ± 1,42**	**14,41 ± 6,89**
7-Metilnonacosano	39.32	4,57 ± 0,66	4,27 ± 1,81	6,98 ± 2,57	6,05 ± 3,10
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	2,46 ± 1,28	1,93 ± 0,63	4,16 ± 0,14	2,12 ± 0,94
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	2,12 ± 0,72	3,17 ± 1,50	3,82 ± 1,50	2,99 ± 1,54
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	**39.87 - 39.93**	**3,57 ± 2,14**	**1,59 ± 0,50**	**1,96 ± 0,27**	**2,25 ± 1,03**
3-Metilnonacosano	40.06	7,50 ± 0,62	4,75 ± 2,10	5,55 ± 1,79	9,45 ± 11,06
13, 15-Dimetilnonacosano	**40.59 - 40.70**	**0,37 ± 0,25**	**9,82 ± 6,08**	**0,50 ± 0,10**	**0,29 ± 0,17**
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	1,11 ± 0,44	2,77 ± 1,59	1,14 ± 0,18	0,92 ± 0,46
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,65 ± 0,95	1,09 ± 0,15	2,41 ± 0,39	2,06 ± 0,52
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	6,08 ± 0,46	4,57 ± 1,44	4,52 ± 0,93	3,41 ± 1,74
7-Metilhentriacontano	43.59	2,10 ± 0,21	1,07 ± 0,50	2,38 ± 0,49	1,97 ± 0,65
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**19,88 ± 11,20**	**10,78 ± 6,42**	**25,64 ± 4,41**	**20,95 ± 8,71**
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	3,94 ± 3,65	1,22 ± 2,16	0,83 ± 0,49	0,92 ± 0,48
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	0,68 ± 0,63	1,50 ± 1,17	1,14 ± 0,26	0,78 ± 0,51
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	0,11 ± 0,15	1,82 ± 2,82	0,12 ± 0,15	0,17 ± 0,19
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	0,16 ± 0,07	2,99 ± 2,06	0,16 ± 0,04	0,13 ± 0,06

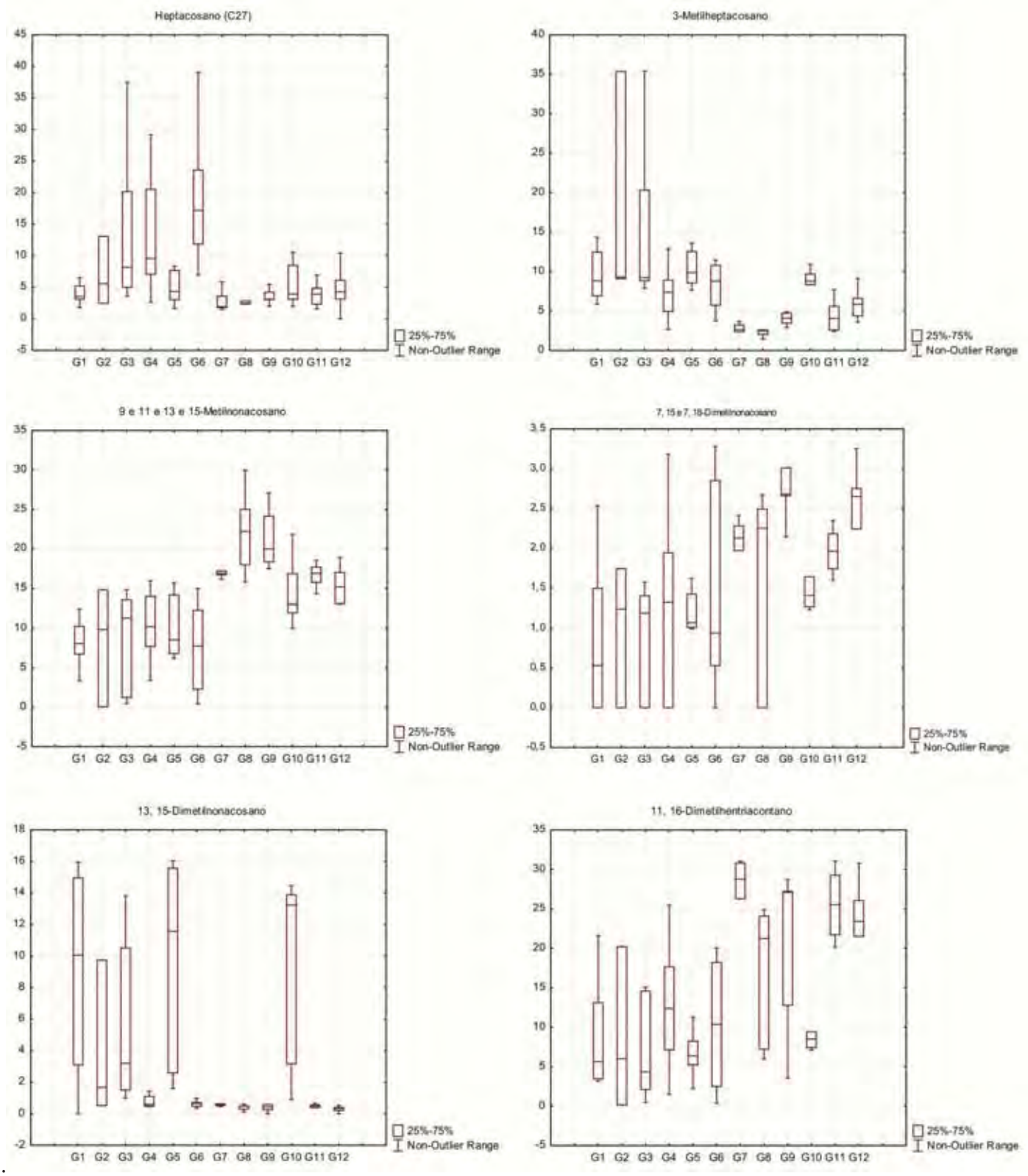
Caracterização dos grupos: *G1*- colônia N4, *G2*- colônia N5a, *G3*- colônia N5b, *G4*- colônia N6, *G5*- colônia N7, *G6*- colônia N8, *G7*- colônia N9, *G8*- colônia N10, *G9*- colônia N11, *G10*- colônia N12, *G11*- colônia N13, *G12*- colônia N14.

Tabela 38: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares entre as diferentes colônias. (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
G1 x G2	17,04	2,01	*0,02
G1 x G3	11,68	2,36	*0,009
G1 x G4	10,21	2,34	*0,01
G1 x G5	8,41	1,82	0,05
G1 x G6	18,29	4,19	*0,00003
G1 x G7	36,50	6,76	*0,0000001
G1 x G8	48,96	8,14	*0,0000001
G1 x G9	26,61	4,43	*0,00001
G1 x G10	18,61	3,45	*0,0003
G1 x G11	22,12	5,06	*0,000003
G1 x G12	19,82	4,96	*0,000004
G2 x G3	12,16	1,38	0,1
G2 x G4	19,39	2,361	*0,009
G2 x G5	11,73	1,38	0,1
G2 x G6	19,59	2,38	*0,009
G2 x G7	36,50	3,941	*0,00006
G2 x G8	54,33	5,51	*0,000001
G2 x G9	34,38	3,48	*0,0002
G2 x G10	19,33	2,09	*0,02
G2 x G11	22,37	2,72	*0,003
G2 x G12	20,58	2,62	*0,004
G3 x G4	13,95	2,97	*0,001
G3 x G5	5,87	1,18	0,3
G3 x G6	16,38	3,49	*0,0002
G3 x G7	33,36	5,82	*0,0000001
G3 x G8	52,16	8,22	*0,0000001
G3 x G9	27,65	4,36	*0,00002
G3 x G10	7,09	1,24	0,2
G3 x G11	19,18	4,08	*0,00004
G3 x G12	19,35	4,47	*0,00001
G4 x G5	15,34	3,51	*0,0002
G4 x G6	4,59	1,12	0,3
G4 x G7	14,78	2,88	*0,001
G4 x G8	28,94	5,029	*0,000003
G4 x G9	9,51	1,65	0,08

Continuação da tabela 38.

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
G4 x G10	13,79	2,68	*0,003
G4 x G11	8,86	2,155	*0,01
G4 x G12	8,16	2,18	*0,01
G5 x G6	17,38	3,98	*0,00006
G5 x G7	34,87	6,46	*0,0000001
G5 x G8	53,26	8,86	*0,0000001
G5 x G9	24,92	4,14	*0,00003
G5 x G10	7,97	1,48	0,1
G5 x G11	20,17	4,62	*0,00001
G5 x G12	21,05	5,27	*0,000002
G6 x G7	13,54	2,63	*0,004
G6 x G8	32,15	5,59	*0,000001
G6 x G9	10,77	1,87	*0,04
G6 x G10	17,98	3,50	*0,0002
G6 x G11	8,97	2,18	*0,01
G6 x G12	9,40	2,51	*0,005
G7 x G8	14,04	2,07	*0,02
G7 x G9	8,42	1,24	0,2
G7 x G10	26,39	4,28	*0,00002
G7 x G11	5,019	0,97	0,4
G7 x G12	10,64	2,23	*0,01
G8 x G9	18,04	2,44	*0,007
G8 x G10	44,13	6,51	*0,0000001
G8 x G11	19,45	3,38	*0,00039
G8 x G12	23,51	4,37	*0,00002
G9x G10	18,29	2,69	*0,003
G9x G11	8,19	1,42	0,1
G9x G12	7,68	1,43	0,1
G10x G11	16,04	3,12	*0,0008
G10x G12	19,29	4,05	*0,00005
G11x G12	4,30	1,15	0,3



.

Figura 9. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas conforme as colônias em *M. cassununga.*

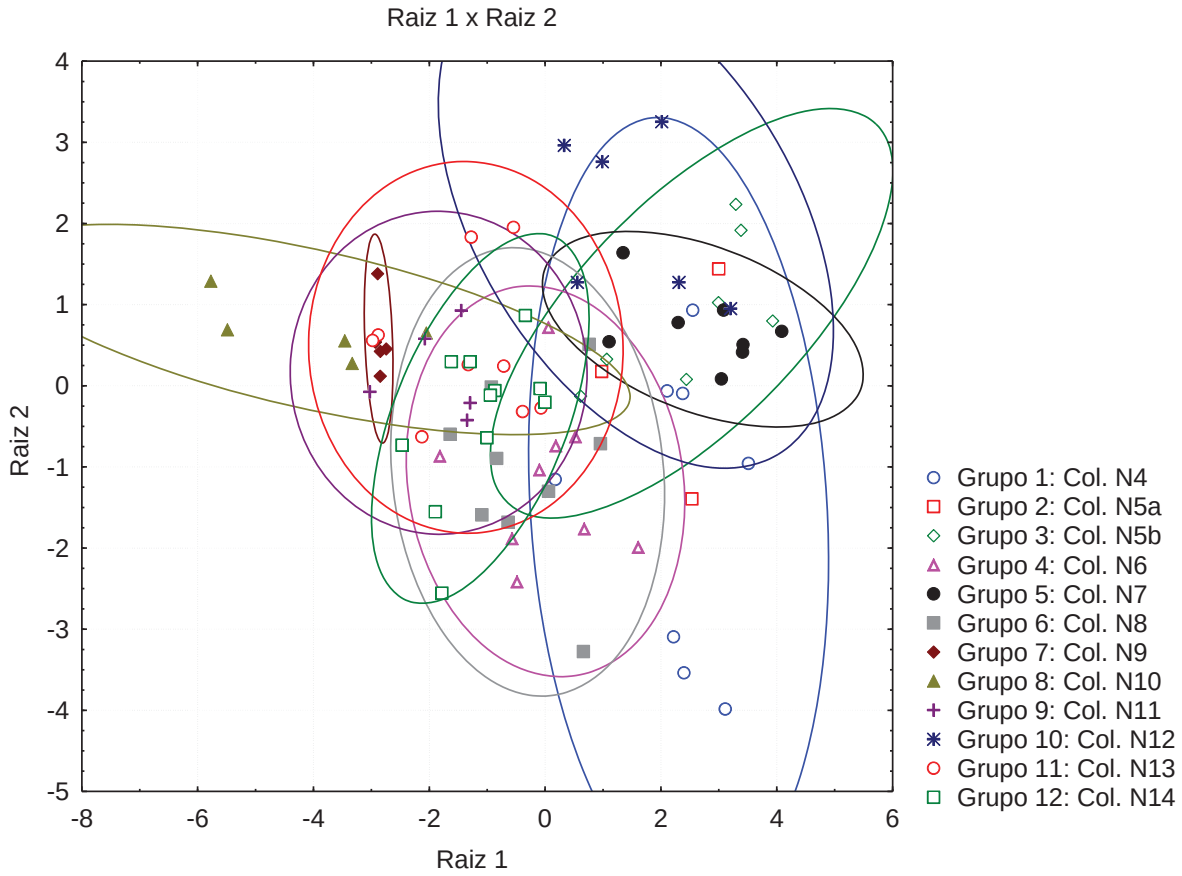


Figura 10. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas de cada uma das colônias. As duas primeiras raizes representam 63% da variabilidade das amostras. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

c.2) Comparação dos perfis químicos das fêmeas e dos pedúnculos dos ninhos entre as colônias de *Mischocyttarus cassununga*

Com a análise discriminante *stepwise* foi possível separar significantemente todos os grupos analisados, tanto nas colônias sem divisão (Segunda análise - Modelo global: Wilks's λ =0.1114, $F_{(42,57)}$ =4.7728, p < 0.00001), quanto nas que se dividiram (Terceira análise - Modelo global: Wilks's λ =0.00001, $F_{(68,18)}$ =9.9245, p < 0.00001). A MANOVA também demonstrou que todos os grupos diferem significantemente em seu perfil cuticular em ambas as comparações (Segunda análise - F= 122947.5, p= 0.002; Terceira análise - F= 463.02, p= 0.0000001). Conforme o resultado obtido na análise anterior, as colônias não foram analisadas conforme as subfases pré-macho ou pós-macho.

Na segunda comparação, os compostos responsáveis pela separação dos grupos foram o 7-Dimetilnonacosano e o heptacosano (C27) (Tabelas 39 e 40), enquanto que, na terceira, foram o 7, 16-dimetilheptacosano, 11 e 13 e 14 e 15-metiltriacontano, 11, 15-dimetilnonacosano, 9, 21-dimetilhentriacontano, 9 e 11 e 13 e 15-metilhentriacontano, 7, 15- e 7, 18- dimetilnonacosano, 11, 16-dimetilhentriacontano, 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano e 11, 15-dimetiltriacontano (Tabelas 41 e 42). Os gráficos Box-plots mostram as variações dos perfis nas proporções dos hidrocarbonetos entre os grupos (Figuras 11 a 13). Os compostos com maiores variações foram os metilalcanos e dimetilalcanos, sendo principalmente o 7-metilheptacosano na segunda comparação, e o 7, 16-dimetilheptacosano, 11 e 13 e 14 e 15-metiltriacontano, 11, 15-dimetilnonacosano, 9, 21-dimetilhentriacontano na terceira comparação.

Em ambas as subfases as amostras dos indivíduos e dos pedúnculos tiveram 100% de correta alocação dentro do grupo esperado (Figuras 14 e 15).

Tabela 39: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares presentes nas fêmeas das colônias N4, N8, N12 e N13 e nos pedúnculos dos ninhos em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 9**	***G2*** **N= 10**	***G3*** **N= 10**	***G4*** **N= 7**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	**33.78**	**7,46 ± 8,01**	**18,66 ± 10,13**	**5,13 ± 3,16**	**4,13 ± 1,86**
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	1,85 ± 1,29	1,23 ± 1,53	0,95 ± 0,92	0,53 ± 0,28
3-Metilheptacosano	35.51	9,78 ± 3,05	8,14 ± 2,64	9,04 ± 1,65	5,31 ± 3,27
Nonacosano (C29)	38.40	4,05 ± 4,50	16,03 ± 9,95	2,90 ± 1,91	3,43 ± 1,58
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	39.07 - 39.25	7,64 ± 3,27	7,95 ± 5,32	14,49 ± 3,87	16,07 ± 2,01
7-Metilnonacosano	**39.32**	**3,07 ± 2,54**	**2,74 ± 1,61**	**4,26 ± 1,66**	**6,75 ± 2,53**
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	1,54 ± 0,98	2,39 ± 1,72	1,91 ± 0,57	4,41 ± 0,82
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	2,84 ± 1,78	2,23 ± 1,83	3,05 ± 1,40	3,43 ± 1,86
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	0,74 ± 0,96	1,38 ± 1,25	1,47 ± 0,55	1,82 ± 0,52
3-Metilnonacosano	40.06	5,36 ± 2,97	11,42 ± 7,17	4,91 ± 1,96	5,40 ± 1,74
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	8,37 ± 6,35	0,63 ± 0,19	10,05 ± 5,59	1,24 ± 2,34
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	3,51 ± 2,77	0,45 ± 0,31	2,77 ± 1,45	1,37 ± 0,77
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,02 ± 0,79	1,24 ± 0,65	1,07 ± 0,15	2,33 ± 0,46
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	2,44 ± 1,18	1,76 ± 1,22	4,50 ± 1,32	4,34 ± 1,04
7-Metilhentriacontano	43.59	1,22 ± 1,08	2,45 ± 0,81	1,11 ± 0,47	2,20 ± 0,73
11, 16-Dimetilhentriacontano	43.95	7,78 ± 7,65	9,92 ± 7,41	10,53 ± 5,90	23,86 ± 7,00
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,42 ± 0,43	0,41 ± 0,53	1,16 ± 1,98	0,74 ± 0,53
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	2,17 ± 0,98	0,49 ± 0,54	1,29 ± 1,21	1,13 ± 0,24
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	4,21 ± 2,48	0,11 ± 0,18	1,56 ± 2,67	0,11 ± 0,15
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	2,26 ± 1,57	0,12 ± 0,07	2,97 ± 1,88	0,34 ± 0,56

Caracterização dos grupos considerando a amostra do pedúnculo: *G1*- Colônia N4; *G2*- Colônia N8; *G3*- Colônia N12; *G4*- Colônia N13.

Tabela 40: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares de acordo com as colônias N4, N8, N12 e N13. (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
G1 X G2	36,47	7,33	0,00005
G1 X G3	28,80	4,81	0,0009
G1 X G4	26,85	5,39	0,0004
G2 X G3	32,33	5,64	0,0003
G2 X G4	16,38	3,47	0,006
G3 X G4	19,33	3,37	0,007

Tabela 41: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares presentes nas fêmeas das colônias N5a, N5b, N14a, N14b e N14c e nos pedúnculos dos ninhos em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 3**	***G2*** **N= 8**	***G3*** **N= 7**	***G4*** **N= 3**	***G5*** **N= 4**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	7,02 ± 5,46	12,05 ± 11,75	5,18 ± 2,43	2,03 ± 3,52	6,65 ± 5,85
7, 16-Dimetilheptacosano	**35.33**	**2,27 ± 2,66**	**0,90 ± 0,63**	**0,96 ± 0,43**	**4,66 ± 3,34**	**1,37 ± 0,64**
3-Metilheptacosano	35.51	17,91 ± 15,10	13,26 ± 10,19	5,56 ± 1,89	5,62 ± 0,59	7,57 ± 3,26
Nonacosano (C29)	38.40	3,11 ± 3,23	4,79 ± 3,54	3,97 ± 1,90	9,90 ± 8,42	7,45 ± 7,28
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**8,23 ± 7,50**	**10,02 ± 6,94**	**17,15 ± 4,77**	**10,03 ± 6,78**	**12,33 ± 6,56**
7-Metilnonacosano	39.32	3,99 ± 4,06	4,09 ± 3,76	6,94 ± 2,55	3,88 ± 2,98	5,46 ± 2,68
11, 15-Dimetilnonacosano	**39.67**	**1,97 ± 3,01**	**2,41 ± 1,51**	**2,81 ± 0,76**	**2,25 ± 1,78**	**1,68 ± 1,56**
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	5,99 ± 6,40	2,21 ± 1,44	3,60 ± 0,87	2,85 ± 2,36	2,86 ± 2,07
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	**39.87 - 39.93**	**0,99 ± 0,90**	**0,93 ± 0,80**	**2,76 ± 0,55**	**2,53 ± 1,95**	**1,88 ± 1,46**
3-Metilnonacosano	40.06	11,11 ± 13,22	10,06 ± 8,24	4,38 ± 2,16	15,56 ± 14,60	12,86 ± 12,60
13, 15-Dimetilnonacosano	**40.59 - 40.70**	**3,98 ± 5,02**	**4,92 ± 4,89**	**0,35 ± 0,13**	**0,57 ± 0,12**	**0,12 ± 0,17**
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	**41.24 - 41.35**	**2,30 ± 2,72**	**2,22 ± 1,74**	**1,08 ± 0,34**	**0,58 ± 0,39**	**0,78 ± 0,46**
11, 15-Dimetiltriacontano	**41.79**	**1,90 ± 0,79**	**1,20 ± 0,52**	**2,04 ± 0,26**	**1,91 ± 0,71**	**2,10 ± 0,73**
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	2,64 ± 2,35	3,24 ± 2,45	4,21 ± 1,20	2,08 ± 1,43	2,86 ± 1,68
7-Metilhentriacontano	43.59	1,32 ± 0,99	1,35 ± 1,11	1,95 ± 0,63	1,43 ± 0,82	2,13 ± 0,87
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**8,78 ± 10,31**	**8,91 ± 8,18**	**23,05 ± 2,06**	**17,46 ± 12,62**	**21,00 ± 11,12**
9, 21-Dimetilhentriacontano	**44.10**	**0,31 ± 0,37**	**0,22 ± 0,27**	**1,25 ± 0,48**	**0,49 ± 0,85**	**0,75 ± 0,61**
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,13 ± 1,01	2,00 ± 0,98	1,13 ± 0,72	0,48 ± 0,36	0,61 ± 0,41
5, 17-Dimetilhentriacontano	**44.42**	**1,57 ± 1,99**	**1,45 ± 2,00**	**0,24 ± 0,15**	**0,00 ± 0,00**	**0,16 ± 0,24**
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	1,10 ± 1,55	1,31 ± 1,41	0,21 ± 0,14	0,08 ± 0,08	0,08 ± 0,07

Caracterização dos grupos considerando a amostra do pedúnculo: *G1*- Colônia N5a; *G2*- Colônia N5b; *G3*- Colônia N14a; *G4*- Colônia N14b; *G5*- Colônia N14c. Somente na colônia N5a não foi possível detectar e identificar os compostos hidrocarbonetos.

Tabela 42: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares de acordo com as colônias que se dividiram na subfase pós-macho (N5a, N5b, N14a, N14b e N14c). (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
G1 X G2	1501,06	38,53	0,001
G1 X G3	141,35	3,49	0,1
G1 X G4	3090,93	54,55	0,0007
G1 X G5	1188,45	23,97	0,003
G2 X G3	1936,719	85,06	0,0003
G2 X G4	720,58	18,49	0,005
G2 X G5	5110,13	160,32	0,00008
G3 X G4	3533,32	87,29	0,0002
G3 x G5	782,53	23,43	0,003
G4 x G5	7442,55	150,10	0,00009

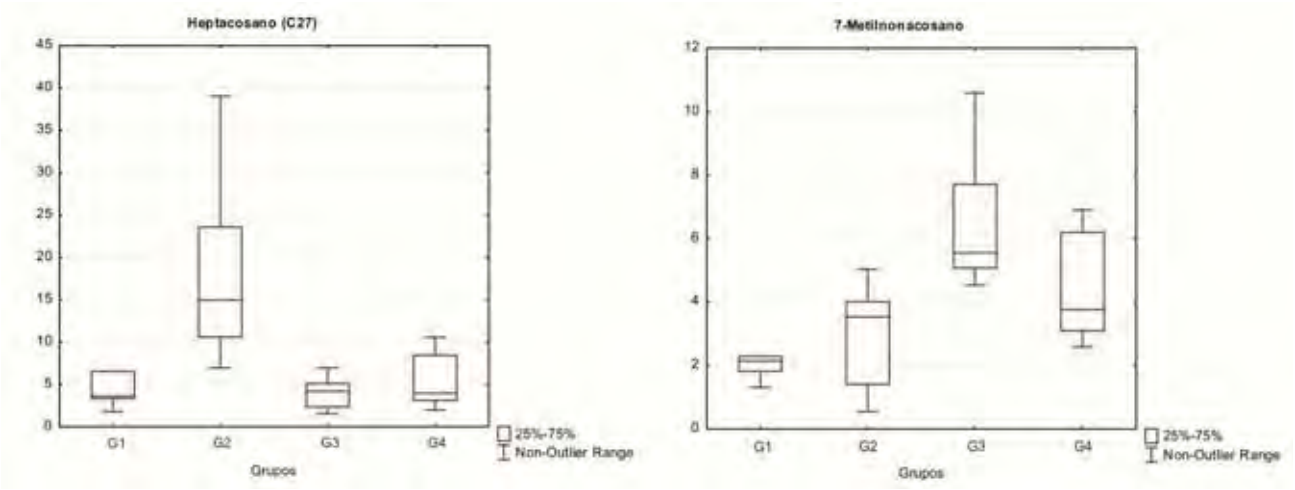


Figura 11. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas e dos pedúnculos dos ninhos conforme as colônias G1: N4, G2: N8, G3: N12 e G4: N13 em *M. cassununga.*

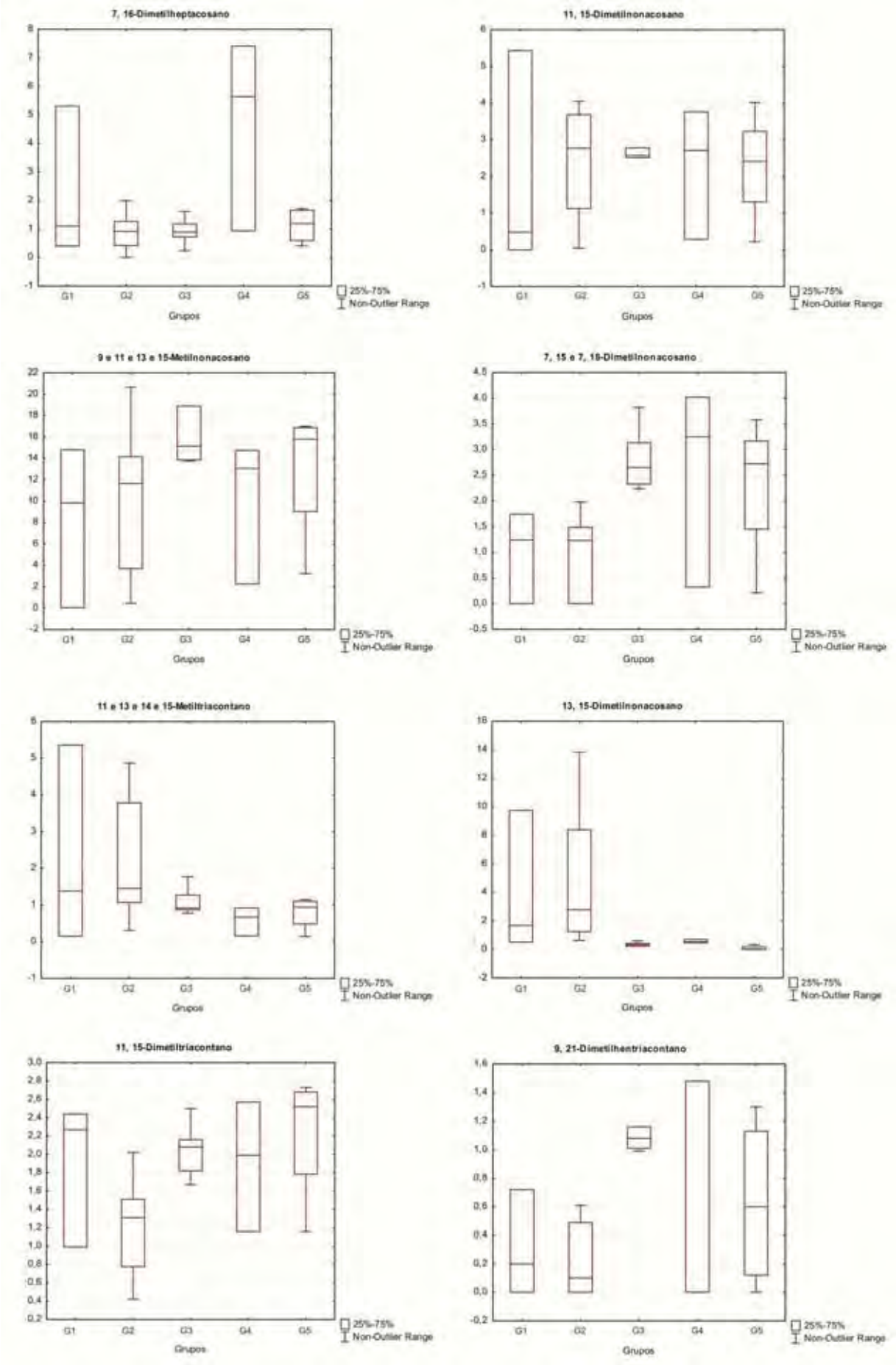


Figura 12. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas e dos pedúnculos dos ninhos conforme as colônias G1: N5a, G2: N5b, G3: N14a, G4: N14b e G5: N14c em *M. cassununga*.

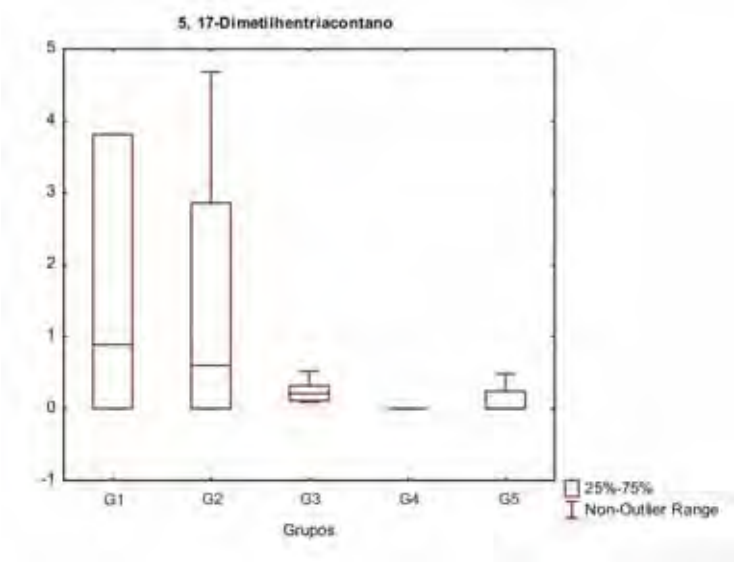


Figura 13. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas e dos pedúnculos dos ninhos conforme as colônias G1: N5a, G2: N5b, G3: N14a, G4: N14b e G5: N14c em *M. cassununga.*

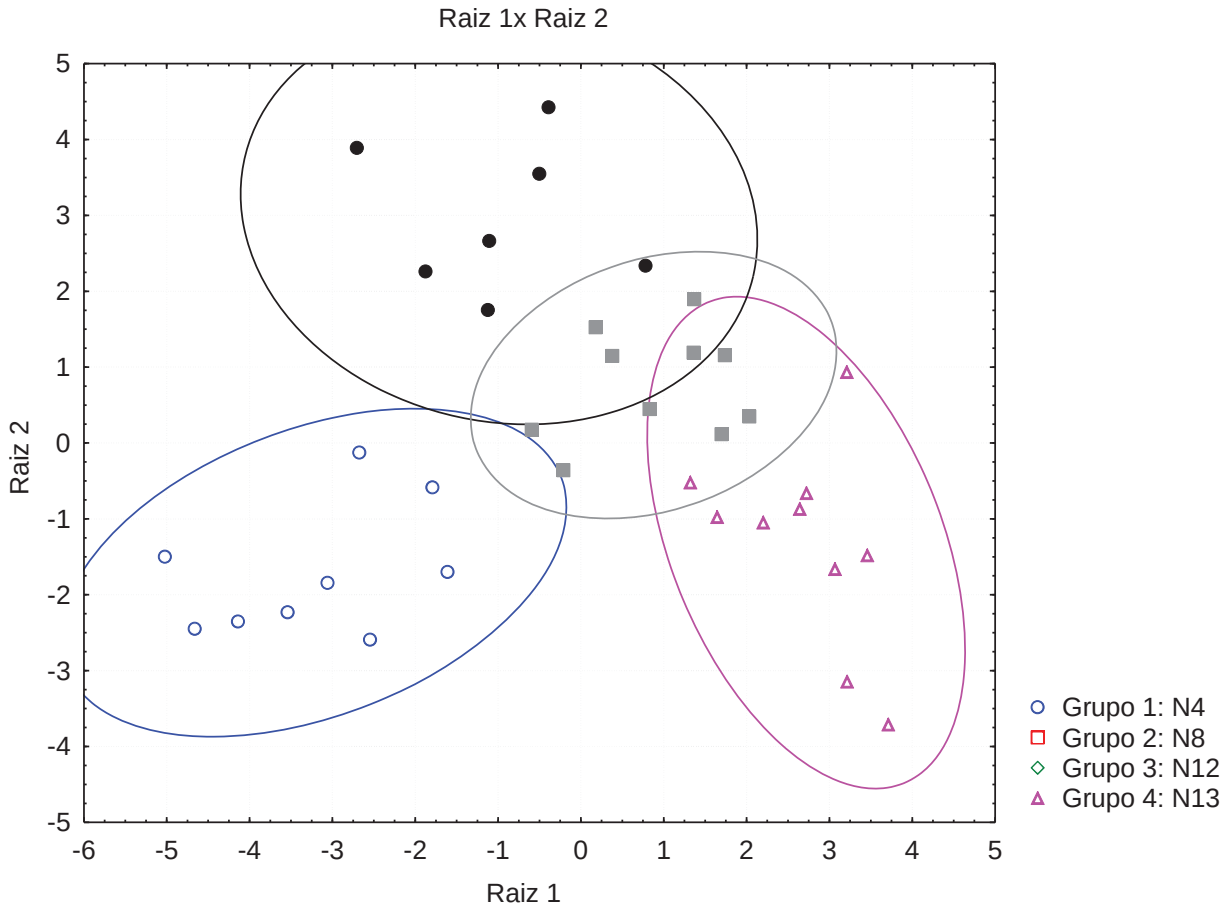


Figura 14. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas de cada uma das colônias considerando os pedúnculos dos ninhos. As duas primeiras raizes representam 100% da variabilidade das amostras. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

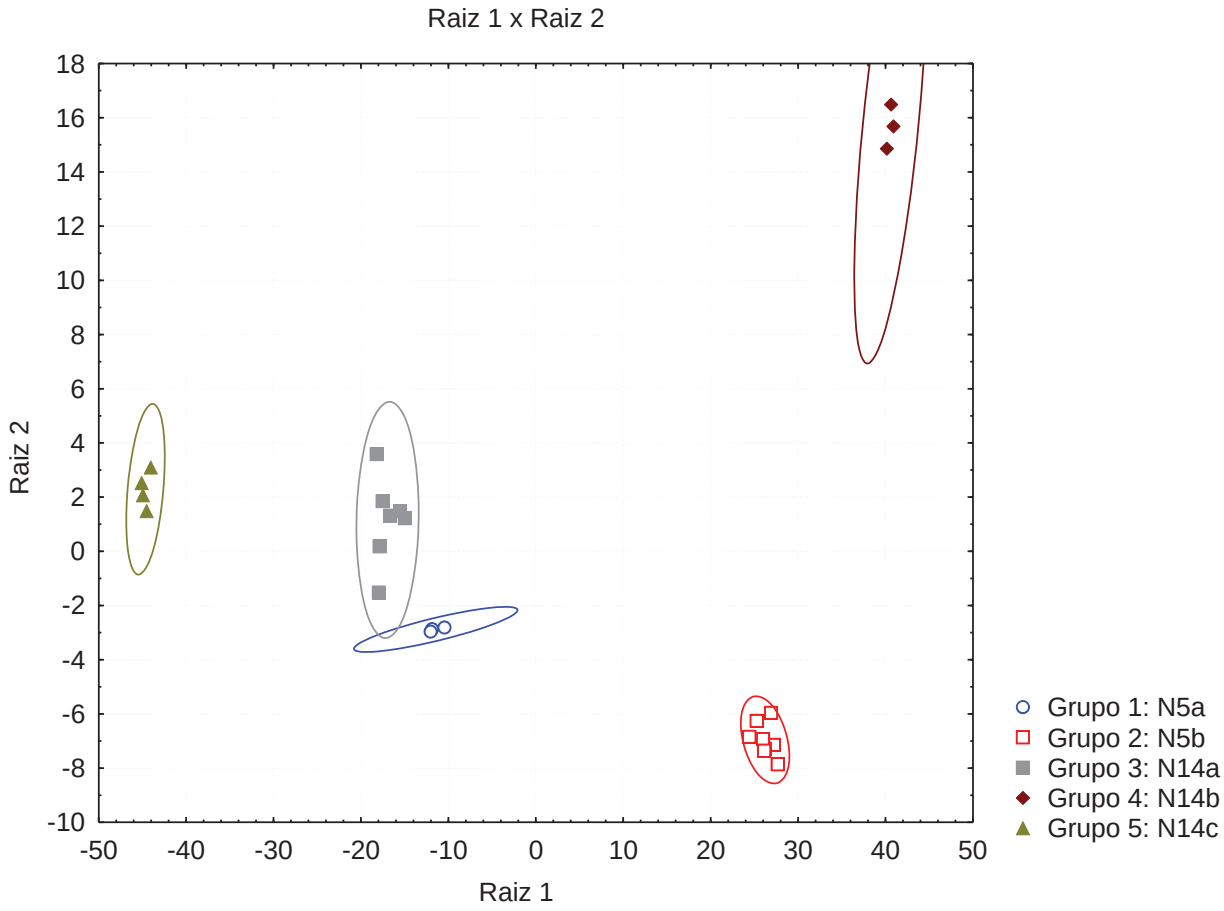


Figura 15. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas de cada uma das colônias considerando o pedúnculo. As duas primeiras raizes representam 100% da variabilidade das amostras. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

c.3) Comparação dos perfis químicos na hierarquia de dominância de *Mischocyttarus cassununga*

Quando aplicou-se a análise discriminante *stepwise* dos compostos analisados, foi possível separar significativamente os grupos analisados (Modelo global: Wilks's λ =0.4519, $F_{(33,212)}$ =1.9955, $p < 0.001$) (Tabela 43), e de forma geral, os grupos foram significativamente diferentes no seu perfil cuticular (MANOVA: F= 623.63, p= 0.0000001).

Na tabela 44, nota-se que foi possível somente separar as fêmeas dominantes reprodutivas (G1 - 1ª posição) das demais subordinadas (G4 - grupo 4), assim como as fêmeas na 3ª posição (G3) da hierarquia das demais subordinadas (G4 - grupo 4).

A classificação da matriz revelou um total de 63,95% de correta alocação das fêmeas dentro do grupo previsto (Figura 16), e dentre todas as substâncias consideradas na análise, os compostos cuticulares 7-metilnonacosano, 11, 15-dimetilnonacosano e 7-metilhentriacontano foram os que mais contribuíram para separar os grupos (Figura 17). Os gráficos Box-plots mostraram que as maiores diferenças nas concentrações aparentemente estão entre G1 e G4.

Tabela 43: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas de acordo com a hierarquia de dominância nas colônias em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 11**	***G2*** **N= 12**	***G3*** **N= 12**	***G4*** **N= 51**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	4,64 ± 5,30	4,21 ± 3,00	8,61 ± 10,33	9,09 ± 8,40
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,50 ± 0,40	0,71 ± 0,44	1,10 ± 1,55	1,45 ± 1,56
3-Metilheptacosano	35.51	8,57 ± 9,31	6,16 ± 2,86	9,03 ± 9,35	7,76 ± 3,81
Nonacosano (C29)	38.40	6,90 ± 8,92	4,97 ± 5,13	7,44 ± 8,37	5,62 ± 5,03
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	39.07 - 39.25	10,14 ± 6,06	13,12 ± 3,68	11,97 ± 8,63	13,70 ± 6,29
7-Metilnonacosano	**39.32**	**2,84 ± 1,64**	**4,12 ± 2,06**	**3,16 ± 2,27**	**5,42 ± 3,00**
11, 15-Dimetilnonacosano	**39.67**	**1,88 ± 1,43**	**2,85 ± 1,14**	**1,98 ± 1,29**	**2,72 ± 2,45**
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	3,16 ± 3,46	3,00 ± 1,25	2,03 ± 1,03	3,24 ± 3,26
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,11 ± 0,97	1,62 ± 0,88	0,99 ± 1,06	1,83 ± 1,27
3-Metilnonacosano	40.06	9,75 ± 8,93	7,04 ± 3,18	9,74 ± 7,04	7,27 ± 5,72
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	6,41 ± 6,90	5,11 ± 6,52	3,11 ± 5,57	2,51 ± 4,17
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	2,93 ± 2,39	2,37 ± 1,75	1,81 ± 1,59	1,34 ± 1,42
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,75 ± 0,74	1,97 ± 0,70	1,44 ± 0,97	1,46 ± 0,74
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	3,68 ± 2,05	4,58 ± 1,62	3,44 ± 2,23	3,48 ± 1,87
7-Metilhentriacontano	**43.59**	**1,67 ± 1,24**	**1,92 ± 1,13**	**1,64 ± 1,01**	**2,04 ± 0,94**
11, 16-Dimetilhentriacontano	43.95	13,44 ± 11,09	18,52 ± 9,79	12,65 ± 12,63	14,49 ± 8,92
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,55 ± 0,55	0,76 ± 0,57	2,05 ± 3,45	1,22 ± 2,06
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,49 ± 0,92	1,45 ± 0,72	1,11 ± 0,77	1,50 ± 1,64
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	2,03 ± 2,81	1,99 ± 2,63	1,36 ± 2,42	0,81 ± 1,64
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	1,93 ± 2,09	1,52 ± 1,93	0,97 ± 1,48	0,64 ± 1,09

Caracterização dos grupos: *G1*- Fêmeas dominantes na primeira posição do ranking; *G2*- Fêmeas na segunda posição do rank; *G3*- Fêmeas na terceira posição do rank; *G4*- Demais subordinadas típicas

Tabela 44: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares na hierarquia de dominância. (* significativo para p <0,05)

Combinações	Distância de Mahalanobis	*F*	*P*
G1 X G2	2,34	1,07	0,3
G1 X G3	3,63	1,66	0,09
G1 X G4	4,72	3,41	*0,0007
G2 X G3	2,52	1,21	0,2
G2 X G4	1,63	1,26	0,2
G3 X G4	3,29	2,56	*0,008

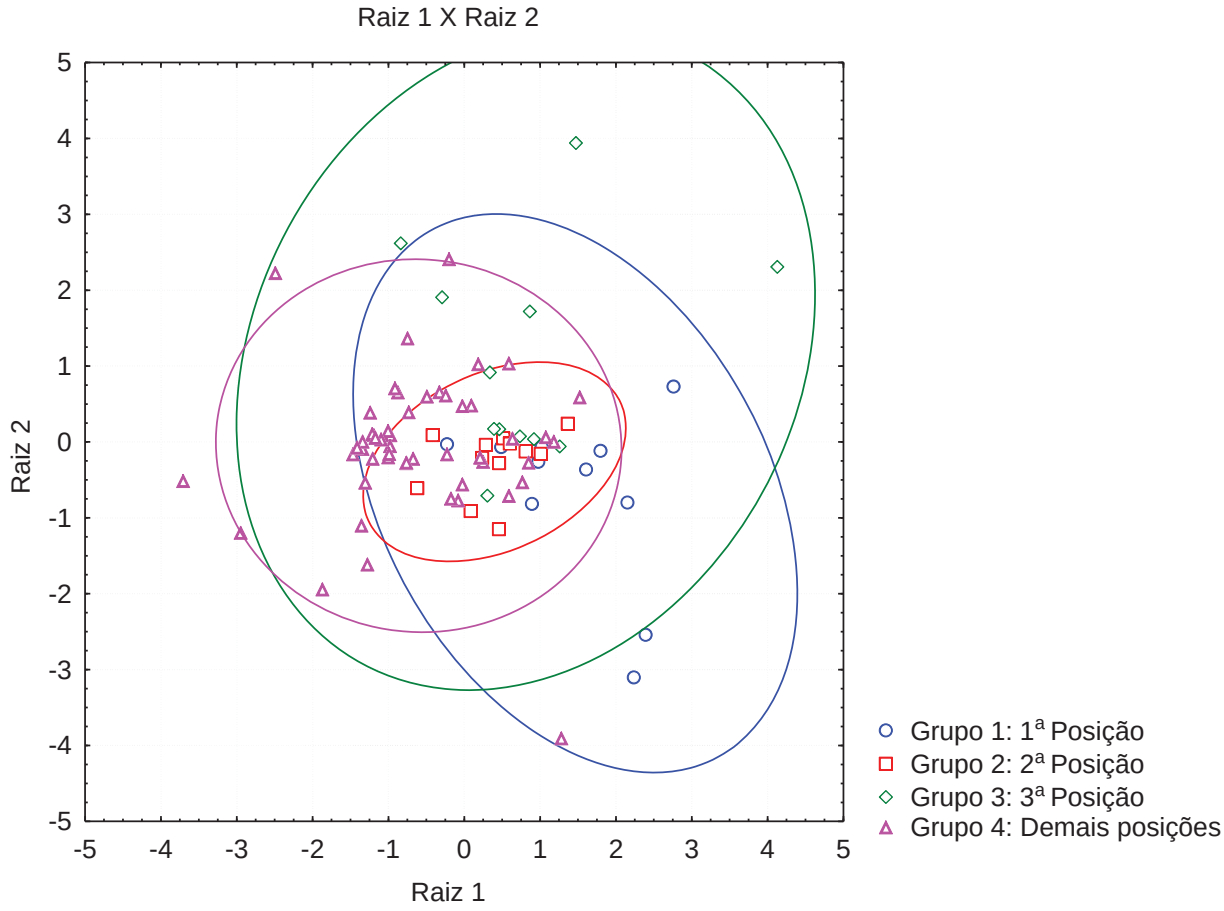


Figura 16. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas na hierarquia de dominância da colônia. Juntas, as duas primeiras raizes representam 90% da variabilidade das amostras. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

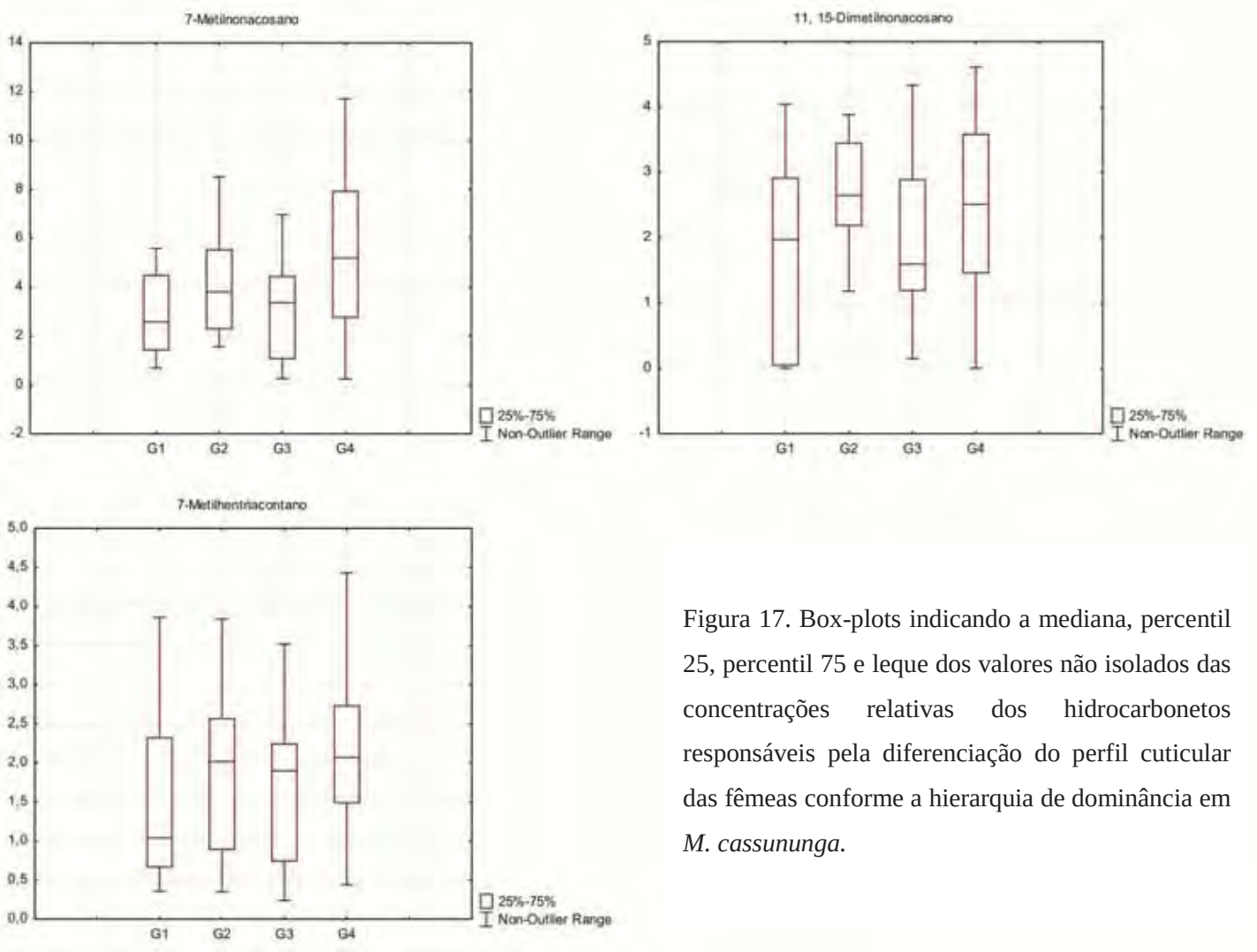


Figura 17. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas conforme a hierarquia de dominância em *M. cassununga.*

c.4) Comparação dos perfis químicos na hierarquia de dominância e conforme a subfase pré-macho e pós-macho de *Mischocyttarus cassununga*

Uma comparação mais detalhada com a análise discriminante *stepwise* mostrou que foi possível separar significantemente os grupos (Modelo global: Wilks's λ =0.1793, $F_{(70,409)}$ =2.0035, $p < 0.0001$) (Tabelas 45 e 46). Neste caso, os resultados da análise canônica mostraram que os principais compostos responsáveis pela separação foram o 7, 16-dimetilheptacosano, nonacosano (C29), 11, 15-dimetilnonacosano, 3-metilnonacosano e 11, 15-dimetiltriacontano (Figura 18). Os resultados indicaram que não existe uma nítida

diferença dos perfis cuticulares dos grupos entre as subfases, ou seja, as diferenças significativas entre determinados grupos não estão associadas à subfase pré-macho ou pós-macho (Tabela 47). Por exemplo, o grupo de fêmeas da 1ª posição hierárquica da subfase pré-macho (G1) diferiu significativamente das 1ªs colocadas na hierarquia da subfase pós-macho (G5), entretanto, o mesmo não ocorreu na comparação das fêmeas da 2ª posição da subfase pós-macho (G6) com as fêmeas da 2ª posição hierárquica da subfase pré-macho (G2).

A MANOVA mostrou que, de forma geral, os perfis cuticulares dos grupos diferiram significativamente (F= 574.13, p= 0.0000001), no entanto, a classificação da matriz apontou somente um total de 45,35% de correta alocação das fêmeas dentro do grupo esperado (Figura 19).

Tabela 45: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas de acordo com a hierarquia de dominância na subfase pré-macho em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 6**	***G2*** **N= 7**	***G3*** **N= 7**	***G4*** **N= 30**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	2,15 ± 1,58	3,00 ± 0,71	4,26 ± 1,91	8,26 ± 7,21
7, 16-Dimetilheptacosano	**35.33**	**0,46 ± 0,31**	**0,69 ± 0,54**	**0,54 ± 0,54**	**1,45 ± 1,58**
3-Metilheptacosano	35.51	5,63 ± 2,48	5,86 ± 3,06	7,36 ± 5,39	7,68 ± 3,63
Nonacosano (C29)	**38.40**	**3,67 ± 2,82**	**3,67 ± 1,89**	**4,48 ± 3,95**	**4,69 ± 4,43**
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	39.07 - 39.25	11,65 ± 4,55	13,30 ± 4,14	15,18 ± 7,62	14,13 ± 6,41
7-Metilnonacosano	39.32	3,09 ± 1,59	3,83 ± 1,60	3,70 ± 1,85	5,62 ± 3,04
11, 15-Dimetilnonacosano	**39.67**	**2,40 ± 0,98**	**2,48 ± 0,96**	**1,92 ± 1,43**	**2,93 ± 3,04**
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	2,75 ± 0,74	2,96 ± 1,42	2,16 ± 0,89	3,61 ± 4,03
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,10 ± 0,96	1,41 ± 0,85	0,96 ± 1,03	1,87 ± 1,40
3-Metilnonacosano	**40.06**	**6,95 ± 0,82**	**6,89 ± 1,38**	**6,28 ± 2,54**	**6,27 ± 3,22**
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	9,73 ± 7,27	6,76 ± 7,60	4,57 ± 7,06	3,21 ± 4,70
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	4,01 ± 2,14	2,75 ± 1,84	2,25 ± 1,79	1,51 ± 1,65
11, 15-Dimetiltriacontano	**41.79**	**1,63 ± 0,53**	**1,83 ± 0,79**	**1,27 ± 0,94**	**1,38 ± 0,77**
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	4,28 ± 1,27	4,77 ± 1,50	4,40 ± 1,38	3,61 ± 1,94
7-Metilhentriacontano	43.59	1,42 ± 1,26	1,71 ± 1,10	1,69 ± 1,14	2,08 ± 1,06
11, 16-Dimetilhentriacontano	43.95	14,16 ± 8,86	18,37 ± 10,81	12,39 ± 11,34	13,74 ± 8,91
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,54 ± 0,47	0,65 ± 0,57	3,17 ± 4,25	1,58 ± 2,60
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,99 ± 0,69	1,62 ± 0,55	1,39 ± 0,81	1,64 ± 1,88
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	3,04 ± 3,29	2,64 ± 2,98	2,33 ± 2,85	1,07 ± 1,94
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	2,94 ± 2,20	1,95 ± 2,18	1,54 ± 1,76	0,81 ± 1,25

Caracterização dos grupos: Subfase pré-macho: *G1*- Fêmeas dominantes (mais dominantes + outras fêmeas superiores), *G2*- Fêmeas forrageadoras típicas; *G3*- Fêmeas subordinadas mais inativas.

Tabela 46: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas de acordo com a hierarquia de dominância na subfase pós-macho em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G5*** **N= 11**	***G6*** **N= 12**	***G7*** **N= 5**	***G8*** **N= 21**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	4,64 ± 5,30	4,21 ± 3,00	14,71 ± 14,44	10,28 ± 9,93
7, 16-Dimetilheptacosano	**35.33**	**0,50 ± 0,40**	**0,71 ± 0,44**	**1,88 ± 2,20**	**1,45 ± 1,57**
3-Metilheptacosano	35.51	8,57 ± 9,31	6,16 ± 2,86	11,38 ± 13,61	7,87 ± 4,14
Nonacosano (C29)	**38.40**	**6,90 ± 8,92**	**4,97 ± 5,13**	**11,60 ± 11,49**	**6,95 ± 5,63**
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	39.07 - 39.25	10,14 ± 6,06	13,12 ± 3,68	7,47 ± 8,62	13,09 ± 6,23
7-Metilnonacosano	39.32	2,84 ± 1,64	4,12 ± 2,06	2,41 ± 2,81	5,15 ± 2,98
11, 15-Dimetilnonacosano	**39.67**	**1,88 ± 1,43**	**2,85 ± 1,14**	**2,06 ± 1,23**	**2,44 ± 1,21**
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	3,16 ± 3,46	3,00 ± 1,25	1,84 ± 1,28	2,71 ± 1,59
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,11 ± 0,97	1,62 ± 0,88	1,04 ± 1,23	1,77 ± 1,10
3-Metilnonacosano	**40.06**	**9,75 ± 8,93**	**7,04 ± 3,18**	**14,59 ± 8,74**	**8,69 ± 7,95**
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	6,41 ± 6,90	5,11 ± 6,52	1,06 ± 1,26	1,51 ± 3,12
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	2,93 ± 2,39	2,37 ± 1,75	1,19 ± 1,13	1,09 ± 0,99
11, 15-Dimetiltriacontano	**41.79**	**1,75 ± 0,74**	**1,97 ± 0,70**	**1,68 ± 1,06**	**1,58 ± 0,69**
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	3,68 ± 2,05	4,58 ± 1,62	2,10 ± 2,63	3,29 ± 1,80
7-Metilhentriacontano	43.59	1,67 ± 1,24	1,92 ± 1,13	1,56 ± 0,91	1,98 ± 0,75
11, 16-Dimetilhentriacontano	43.95	13,44 ± 1,09	18,52 ± 9,79	13,02 ± 15,68	15,57 ± 9,03
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,55 ± 0,55	0,76 ± 0,57	0,47 ± 0,65	0,70 ± 0,54
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,49 ± 0,92	1,45 ± 0,72	0,72 ± 0,57	1,30 ± 1,23
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	2,03 ± 2,81	1,99 ± 2,63	0,001 ± 0,00	0,45 ± 1,02
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	1,93 ± 2,09	1,52 ± 1,93	0,18 ± 0,16	0,39 ± 0,76

Caracterização dos grupos: Subfase pós-macho: *G1*- Fêmeas dominantes (mais dominantes + outras fêmeas superiores), *G2*- Fêmeas forrageadoras típicas; *G3*- Fêmeas subordinadas mais inativas.

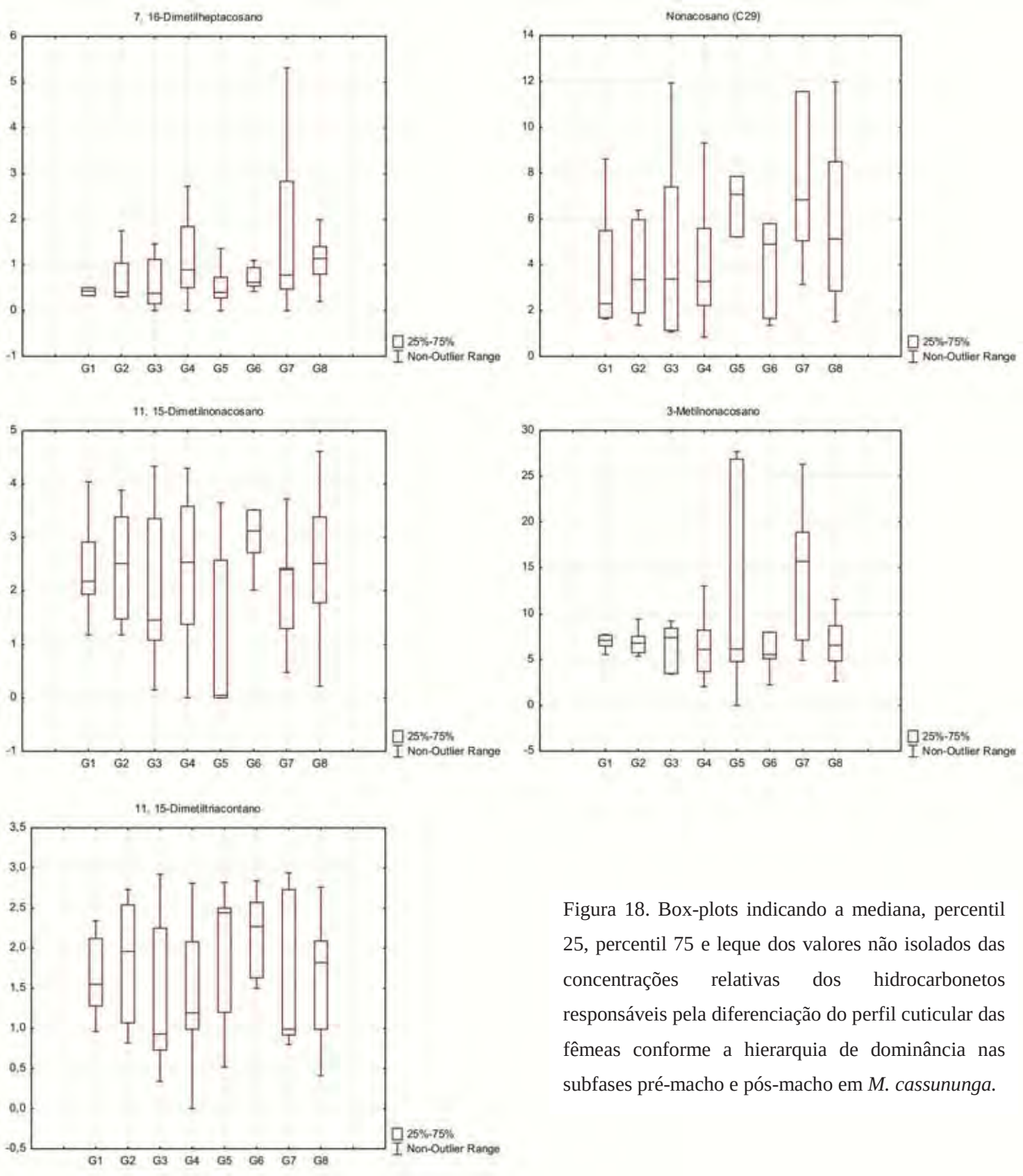


Figura 18. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas conforme a hierarquia de dominância nas subfases pré-macho e pós-macho em *M. cassununga.*

Tabela 47: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares na hierarquia de dominância das subfases pré-macho e pós-macho. (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
G1 X G2	2,01	0,57	0,8
G1 X G3	3,95	1,19	0,3
G1 X G4	5,36	2,37	*0,01
G1 X G5	21,14	5,10	*0,00001
G1 X G6	3,99	0,96	0,4
G1 X G7	12,65	2,68	*0,007
G1 X G8	5,53	2,28	*0,02
G2 X G3	2,96	0,98	0,4
G2 X G4	1,38	0,69	0,7
G2 X G5	18,58	4,79	*0,00003
G2 X G6	0,64	0,16	0,9
G2 X G7	8,35	1,88	0,06
G2 X G8	1,55	0,72	0,7
G3 X G4	4,57	2,55	*0,01
G3 X G5	19,15	5,21	*0,00001
G3 X G6	3,76	1,02	0,4
G3 X G7	10,88	2,57	*0,01
G3 X G8	4,64	2,38	*0,01
G4 X G5	18,45	6,99	*0,000001
G4 X G6	1,48	0,56	0,8
G4 X G7	8,00	2,50	*0,01
G4 X G8	0,70	0,77	0,6
G5 X G6	16,57	3,66	*0,0005
G5 X G7	16,72	3,29	*0,001
G5 X G8	16,01	5,72	*0,000003
G6 X G7	5,64	1,11	0,3
G6 X G8	0,76	0,27	0,9
G7 X G8	4,45	1,32	0,2

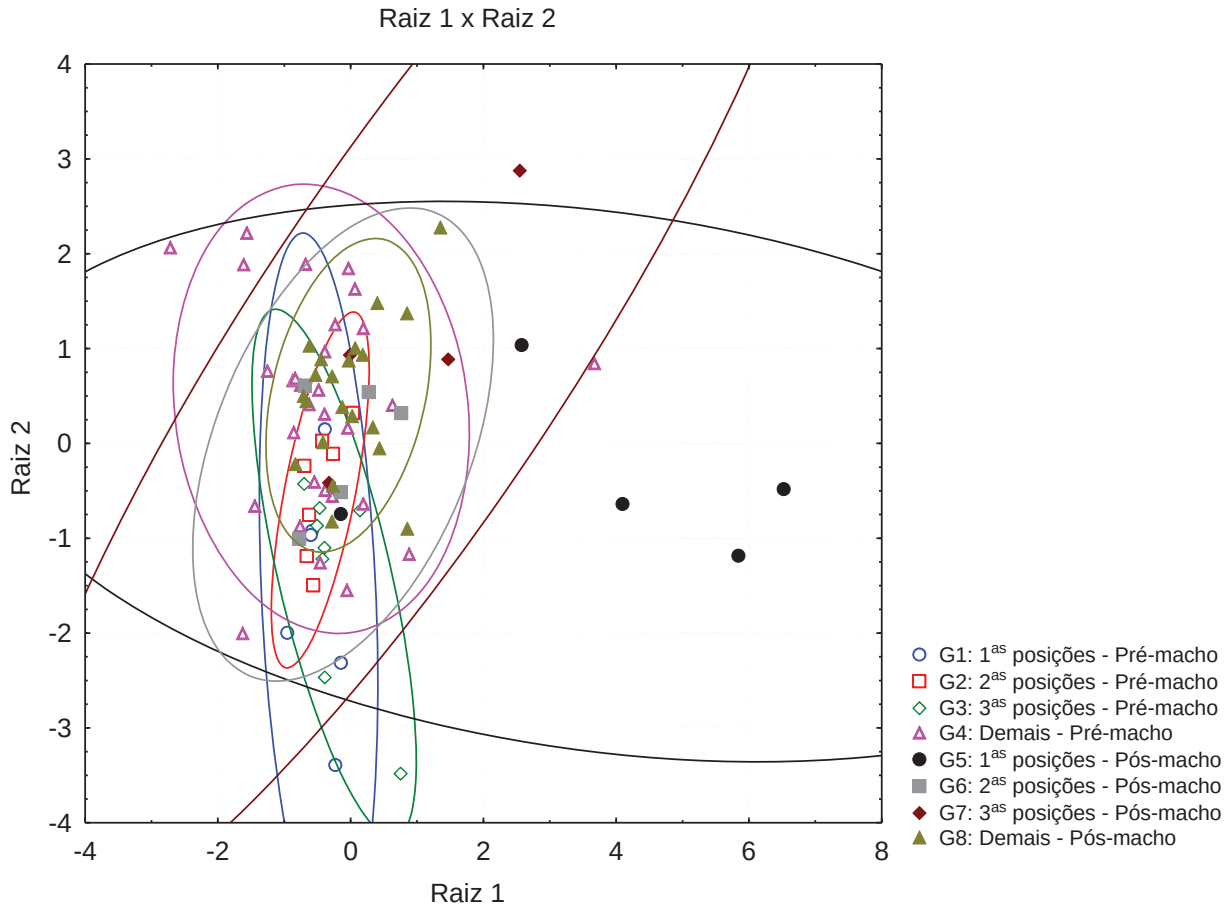


Figura 19. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas na hierarquia de dominância de acordo com a subfase pré-macho e pós-macho da colônia. Juntas, as duas primeiras raizes representam 74% da variabilidade das amostras. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

c.5) Comparação dos perfis químicos de acordo com o padrão comportamental da divisão de tarefas na colônia de *Mischocyttarus cassununga*

Após o agrupamento das fêmeas por categorias características de comportamento, a análise discriminante *stepwise* dos perfis cuticulares mostrou que foi possível separá-las significantemente (Modelo global: Wilks's λ =0.4278, $F_{(22,118)}$ =2.8363, $p < 0.0002$) (Tabela 48). A MANOVA revelou que os grupos diferem em seu perfil cuticular (F= 575.06, p= 0.0000001).

Através da análise canônica, os principais compostos responsáveis por essa separação foram o heptacosano (C27), 7-metilnonacosano, 3-metilnonacosano e 11, 16-

dimetilhentriacontano (Figura 20), onde, aparentemente, o heptacosano (C27) e 11, 16-dimetilhentriacontano revelaram uma maior diferença relativa entre os perfis dos grupos de fêmeas. Os resultados da canônica para todas as combinações possíveis também revelou que as fêmeas dominantes (G1) diferiram significantemente dos outros dois grupos de fêmeas na hierarquia (G2 - fêmeas forrageadoras e G3 - fêmeas mais subordinadas), embora a significância na comparação entre G2 x G3 não foi significativa (Tabela 49).

A classificação da matriz apontou um total de 72,22% de correta alocação das fêmeas no grupo esperado (Figura 21).

Tabela 48: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares de acordo com o padrão comportamental das fêmeas em *M. cassununga*. (*G*: grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 24**	***G2*** **N= 23**	***G3*** **N= 25**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	**33.78**	**3,90 ± 3,72**	**9,21 ± 8,59**	**11,39 ± 10,18**
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,53 ± 0,46	1,35 ± 1,35	1,37 ± 1,44
3-Metilheptacosano	35.51	7,09 ± 6,98	8,14 ± 4,59	7,90 ± 3,43
Nonacosano (C29)	38.40	5,47 ± 6,36	6,41 ± 6,93	6,09 ± 5,55
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	39.07 - 39.25	12,61 ± 6,27	12,37 ± 6,79	13,61 ± 5,89
7-Metilnonacosano	**39.32**	**3,29 ± 1,74**	**4,57 ± 2,87**	**5,30 ± 3,02**
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	2,31 ± 1,27	2,81 ± 3,42	2,73 ± 1,24
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	2,42 ± 1,20	3,22 ± 4,53	3,08 ± 1,69
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,17 ± 0,89	1,41 ± 0,97	1,91 ± 1,56
3-Metilnonacosano	**40.06**	**8,46 ± 5,95**	**7,62 ± 4,52**	**6,41 ± 3,30**
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	6,28 ± 6,94	3,19 ± 4,69	2,37 ± 3,99
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	2,66 ± 1,99	1,67 ± 1,56	1,24 ± 1,47
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,70 ± 0,85	1,38 ± 0,77	1,35 ± 0,72
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	4,38 ± 1,82	3,50 ± 2,13	3,29 ± 1,79
7-Metilhentriacontano	43.59	1,76 ± 1,19	2,09 ± 1,17	1,95 ± 0,83
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**15,37 ± 11,22**	**12,23 ± 8,96**	**14,07 ± 9,10**
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	1,40 ± 2,51	1,26 ± 2,38	1,12 ± 1,93
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,51 ± 0,82	1,49 ± 1,21	1,61 ± 1,99
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	2,13 ± 2,74	1,06 ± 2,04	0,84 ± 1,59
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	1,81 ± 1,99	0,86 ± 1,24	0,56 ± 0,92

Caracterização dos grupos: *G1*- Fêmeas dominantes (mais dominantes + outras fêmeas superiores), *G2*- Fêmeas forrageadoras típicas; *G3*- Fêmeas subordinadas mais inativas.

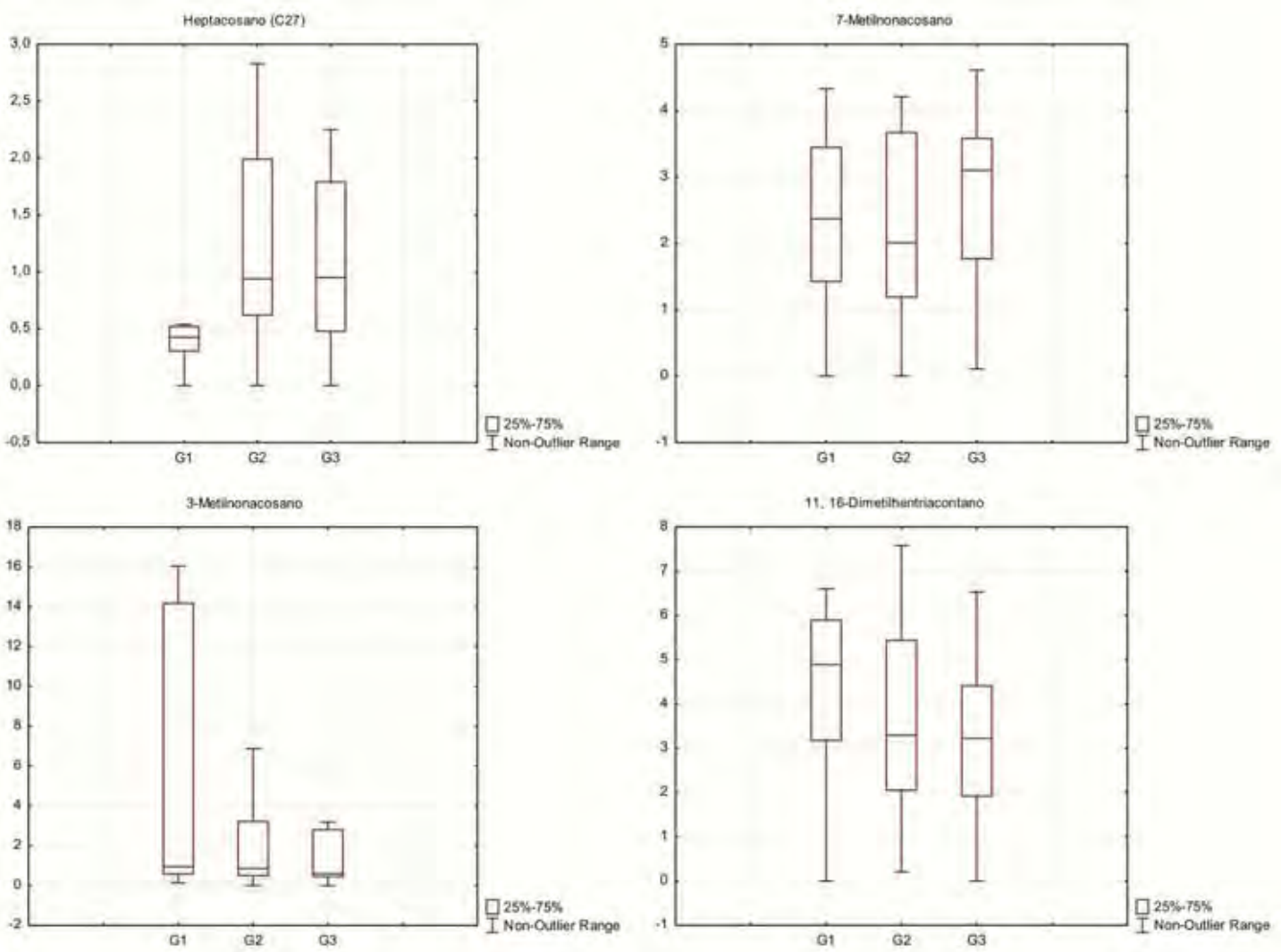


Figura 20. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular conforme o padrão comportamental das fêmeas em *M. cassununga.*

Tabela 49: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares em relação ao padrão comportamental dos grupos de fêmeas. (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
G1 X G2	2,6	2,32	*0,01
G1 X G3	5,55	5,26	*0,00001
G2 X G3	1,80	1,71	0,09

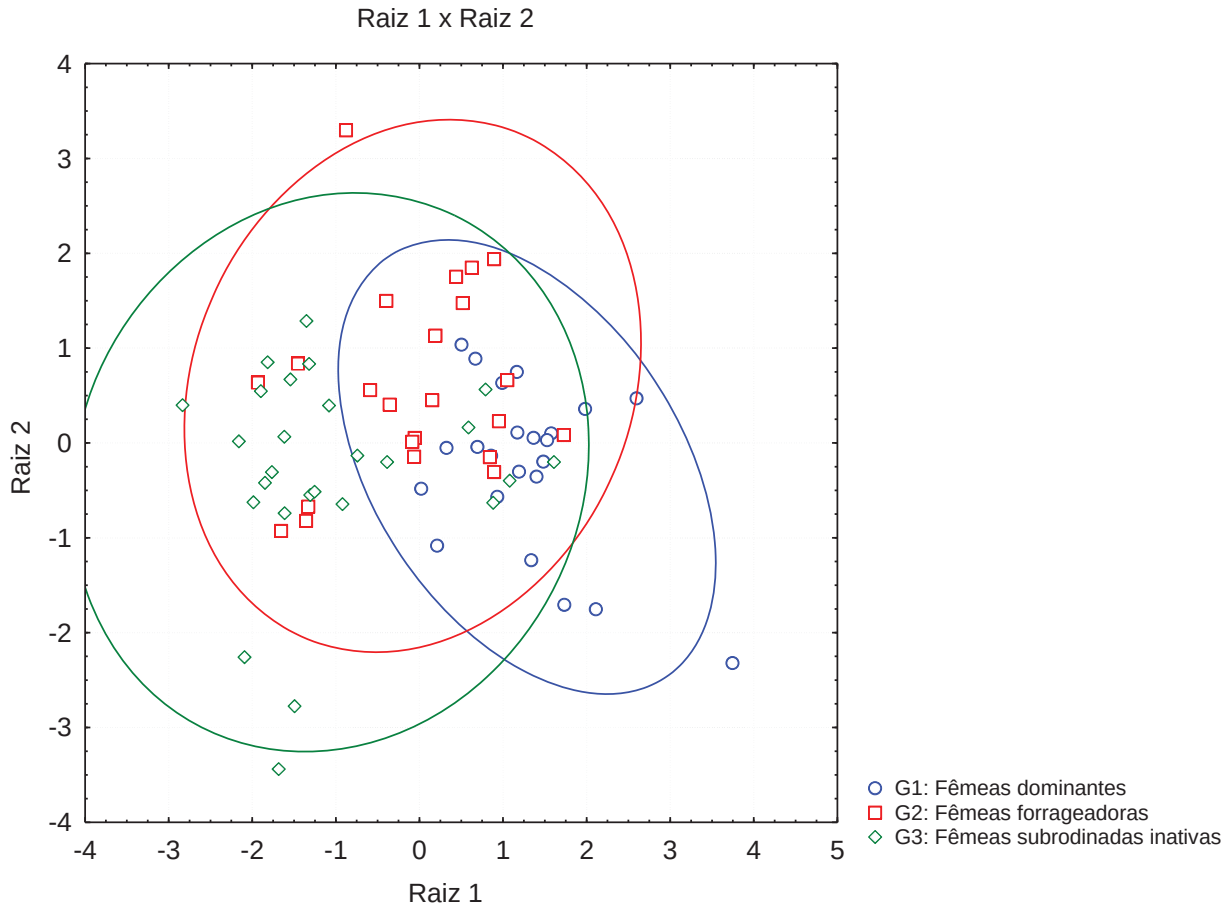


Figura 21. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas de acordo com o padrão comportamental das fêmeas. Juntas, as duas primeiras raizes representam 100% da variabilidade das amostras. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

c.6) Comparação dos perfis químicos de acordo com o padrão comportamental da divisão de tarefas das colônias nas subfases pré-macho e pós-macho de *Mischocyttarus cassununga*

A análise discriminante *stepwise* dos perfis cuticulares, de acordo com o padrão comportamental das fêmas ao longo da ontogenia colonial, mostrou que foi possível separar significantemente quase todos os grupos (Modelo global: Wilks's λ =0.1868, $F_{(55,262)}$ =2.0873, $p < 0.0001$) (Tabela 50 e 51).

Através da análise discriminante, os principais compostos responsáveis por essa separação foram o nonacosano (C29), 9, 11, 13 e 15-metilnonacosano, 3-metilnonacosano, 11, 15-dimetiltriacontano e 7-Metilhentriacontano (Figura 22). Percebe-se que os compostos 9, 11, 13 e 15-metilnonacosano e 11, 15-dimetiltriacontano aparentemente foram os que mais diferiram nas concentrações relativas entre os grupos de indivíduos, além disso, as fêmeas dominantes do grupo G4 na subfase pós-macho apresentaram a maiores variações nas concentrações dos compostos ramificados.

De maneira geral, a MANOVA mostrou que os perfis dos grupos diferiram significantemente entre si (F= 571.06, p= 0.0000001). O resultado da análise canônica para todas as combinações possíveis mostrou que as diferenças significativas ocorreram principalmente na comparação entre os grupos das diferentes subfases, no entanto, uma diferença significativa entre as fêmeas dominantes na subfase pré-macho (G1) e forrageadoras na subfase pós-macho (G5) não foi clara (Tabela 52).

A classificação da matriz apontou somente um total de 56,94% de correta alocação das fêmeas no grupo esperado (Figura 23).

Tabela 50: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas de acordo com o padrão comportamental na subfase pré-macho em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 17**	***G2*** **N= 15**	***G3*** **N= 18**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	3,14 ± 1,60	6,68 ± 5,76	8,81 ± 7,95
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,55 ± 0,48	1,40 ± 1,57	1,43 ± 1,55
3-Metilheptacosano	35.51	6,22 ± 3,62	8,34 ± 4,27	7,27 ± 3,50
Nonacosano (C29)	**38.40**	**4,15 ± 3,07**	**3,48 ± 2,09**	**5,34 ± 5,41**
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**13,10 ± 5,79**	**13,52 ± 6,67**	**14,81 ± 6,03**
7-Metilnonacosano	39.32	3,50 ± 1,80	5,13 ± 2,78	5,72 ± 3,12
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	2,23 ± 1,10	3,13 ± 4,17	2,66 ± 1,30
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	2,66 ± 1,16	3,87 ± 5,48	3,18 ± 1,73
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,07 ± 0,84	1,52 ± 0,92	2,08 ± 1,70
3-Metilnonacosano	**40.06**	**6,91 ± 1,49**	**5,46 ± 2,60**	**6,63 ± 3,61**
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	8,03 ± 7,27	3,85 ± 5,59	2,29 ± 3,71
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	3,09 ± 2,04	1,94 ± 1,82	1,27 ± 1,44
11, 15-Dimetiltriacontano	**41.79**	**1,54 ± 0,77**	**1,40 ± 0,83**	**1,43 ± 0,77**
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	4,39 ± 1,26	3,81 ± 2,13	3,64 ± 1,87
7-Metilhentriacontano	**43.59**	**1,61 ± 1,19**	**2,08 ± 1,23**	**1,99 ± 0,89**
11, 16-Dimetilhentriacontano	43.95	14,12 ± 9,78	12,96 ± 9,28	15,31 ± 9,66
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	1,60 ± 2,95	1,65 ± 2,87	1,40 ± 2,20
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,70 ± 0,75	1,35 ± 0,97	1,80 ± 2,24
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	2,75 ± 2,89	1,52 ± 2,41	0,84 ± 1,59
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	2,27 ± 2,07	1,10 ± 1,45	0,54 ± 0,82

Caracterização dos grupos: Subfase pré-macho: *G1*- Fêmeas dominantes (mais dominantes + outras fêmeas superiores), *G2*- Fêmeas forrageadoras típicas; *G3*- Fêmeas subordinadas mais inativas.

Tabela 51: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas de acordo com o padrão comportamental na subfase pós-macho em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G4*** **N= 7**	***G5*** **N= 8**	***G6*** **N= 7**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	5,77 ± 6,36	13,96 ± 11,24	18,04 ± 12,80
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,50 ± 0,42	1,24 ± 0,88	1,21 ± 1,22
3-Metilheptacosano	35.51	9,18 ± 12,02	7,77 ± 5,44	9,52 ± 2,84
Nonacosano (C29)	**38.40**	**8,66 ± 10,65**	**11,90 ± 9,46**	**8,00 ± 5,86**
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**11,42 ± 7,70**	**10,20 ± 6,93**	**10,52 ± 4,52**
7-Metilnonacosano	39.32	2,77 ± 1,60	3,51 ± 2,92	4,21 ± 2,61
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	2,49 ± 1,69	2,21 ± 1,19	2,89 ± 1,18
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	1,83 ± 1,17	1,99 ± 1,33	2,83 ± 1,66
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,41 ± 1,03	1,20 ± 1,08	1,49 ± 1,17
3-Metilnonacosano	**40.06**	**12,23 ± 10,30**	**11,66 ± 4,68**	**5,86 ± 2,49**
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	2,03 ± 3,75	1,97 ± 1,98	2,58 ± 4,98
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	1,62 ± 1,52	1,18 ± 0,82	1,18 ± 1,65
11, 15-Dimetiltriacontano	**41.79**	**2,08 ± 0,99**	**1,35 ± 0,68**	**1,16 ± 0,60**
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	4,34 ± 2,91	2,93 ± 2,15	2,40 ± 1,24
7-Metilhentriacontano	**43.59**	**2,12 ± 1,18**	**2,11 ± 1,14**	**1,85 ± 0,70**
11, 16-Dimetilhentriacontano	43.95	18,39 ± 14,58	10,84 ± 8,75	10,90 ± 7,09
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,90 ± 0,74	0,53 ± 0,55	0,40 ± 0,47
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,04 ± 0,86	1,77 ± 1,62	1,14 ± 1,13
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	0,65 ± 1,72	0,21 ± 0,43	0,87 ± 1,71
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	0,69 ± 1,29	0,43 ± 0,51	0,61 ± 1,21

Caracterização dos grupos: Subfase pós-macho: *G1*- Fêmeas dominantes (mais dominantes + outras fêmeas superiores), *G2*- Fêmeas forrageadoras típicas; *G3*- Fêmeas subordinadas mais inativas.

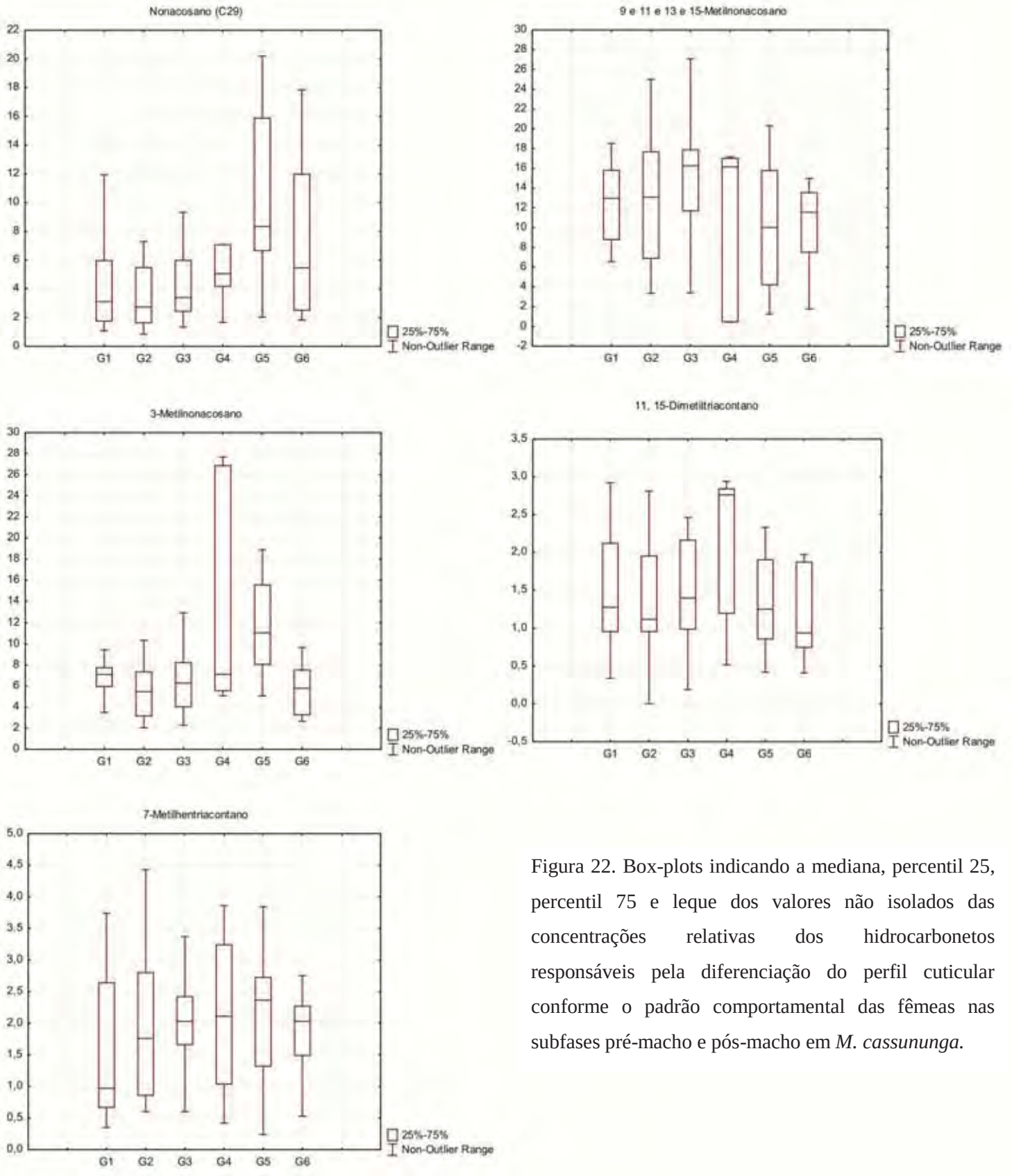


Figura 22. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular conforme o padrão comportamental das fêmeas nas subfases pré-macho e pós-macho em *M. cassununga.*

Tabela 52: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares de acordo com o padrão comportamental das fêmeas nas subfases pré-macho e pós-macho. (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
G1 X G2	5,39	3,31	*0,001
G1 X G3	4,48	3,02	*0,003
G1 X G4	1,59	0,54	0,8
G1 X G5	4,28	1,79	0,07
G1 X G6	9,63	4,04	*0,0002
G2 X G3	1,57	0,99	0,4
G2 X G4	7,45	2,46	*0,01
G2 X G5	8,68	3,49	*0,0009
G2 X G6	5,92	2,38	*0,01
G3 X G4	5,79	2,00	*0,04
G3 X G5	7,12	3,04	*0,002
G3 X G6	5,36	2,29	*0,02
G4 X G5	2,41	0,64	0,7
G4 X G6	9,00	2,38	*0,01
G5 X G6	5,35	1,65	0,1

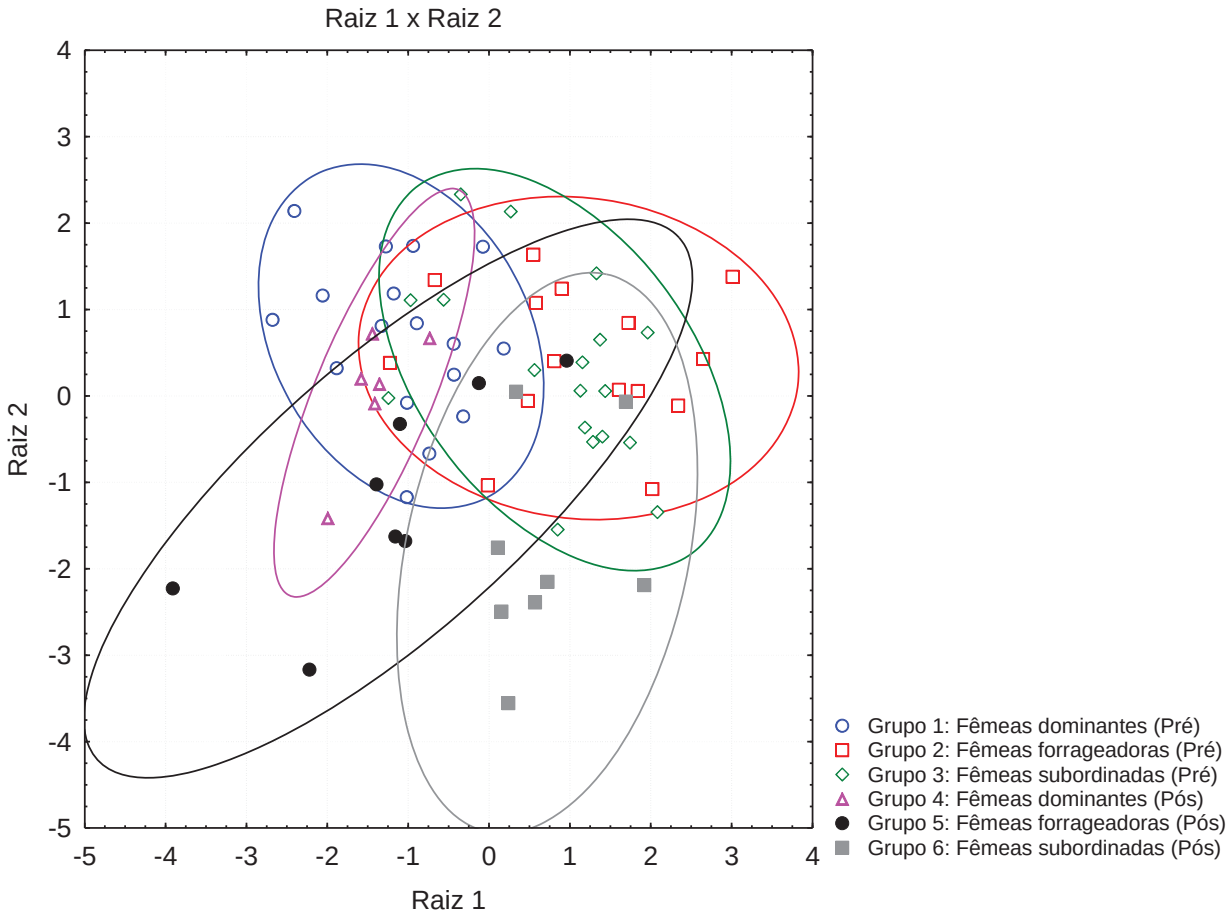


Figura 23. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas de acordo com o padrão comportamental das fêmeas nas subfases pré-macho e pós-macho. Juntas, as duas primeiras raizes representam 85% da variabilidade das amostras. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

c.7) Comparação dos perfis químicos entre as fêmeas inseminadas (I) e não inseminadas (NI) de *Mischocyttarus cassununga*

Através da análise discriminante *stepwise* foi possível separar significantemente os dois grupos (Modelo global: Wilks's λ =0.5845, $F_{(7,67)}$ =6.8028, $p < 0.00001$) (Tabela 53). A MANOVA revelou que os grupos diferiram significativamente no perfil cuticular (F= 653.13, p= 0.0000001). Os resultados da análise discriminate ainda mostraram que os principais compostos responsáveis pela separação dos grupos foram o heptacosano (C27), 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 3-metilnonacosano e 11, 16-dimetilhentriacontano (Figura 24).

Aparentemente, os metilalcanos representaram as maiores diferenças das concentrações relativas entre os dois grupos (I x NI).

Nesta comparação, através da classificação da matriz, a análise canônica apontou um total de 80% de correta alocação das fêmeas dentro do grupo esperado (Tabela 54). Não foi possível obter um gráfico na análise canônica, pois somente uma raiz (Raiz 1) foi gerada na análise.

Tabela 53: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas inseminadas (I) e não inseminadas (NI) em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 22**	***G2*** **N= 53**
		M ± DP	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	**33.78**	**5,75 ± 5,40**	**9,14 ± 9,23**
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,98 ± 1,24	1,17 ± 1,31
3-Metilheptacosano	35.51	8,48 ± 9,09	7,86 ± 4,09
Nonacosano (C29)	38.40	7,81 ± 8,79	5,08 ± 4,47
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**10,38 ± 5,74**	**13,67 ± 6,32**
7-Metilnonacosano	39.32	3,28 ± 2,13	4,84 ± 2,84
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	2,23 ± 1,36	2,74 ± 2,45
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	2,84 ± 2,62	3,11 ± 3,18
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,24 ± 0,97	1,60 ± 1,26
3-Metilnonacosano	**40.06**	**10,63 ± 7,41**	**6,44 ± 3,15**
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	4,72 ± 6,14	3,59 ± 5,18
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	2,27 ± 2,12	1,71 ± 1,63
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,80 ± 0,74	1,37 ± 0,78
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	3,71 ± 2,15	3,68 ± 1,89
7-Metilhentriacontano	43.59	1,99 ± 1,27	1,88 ± 0,97
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**14,83 ± 11,11**	**13,29 ± 9,17**
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,58 ± 0,59	1,49 ± 2,56
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,27 ± 0,90	1,65 ± 1,58
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	1,54 ± 2,45	1,29 ± 2,13
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	1,37 ± 1,82	0,98 ± 1,43

Caracterização dos grupos: *G1*- Fêmeas inseminadas (I); *G2*- Fêmeas não inseminadas (NI).

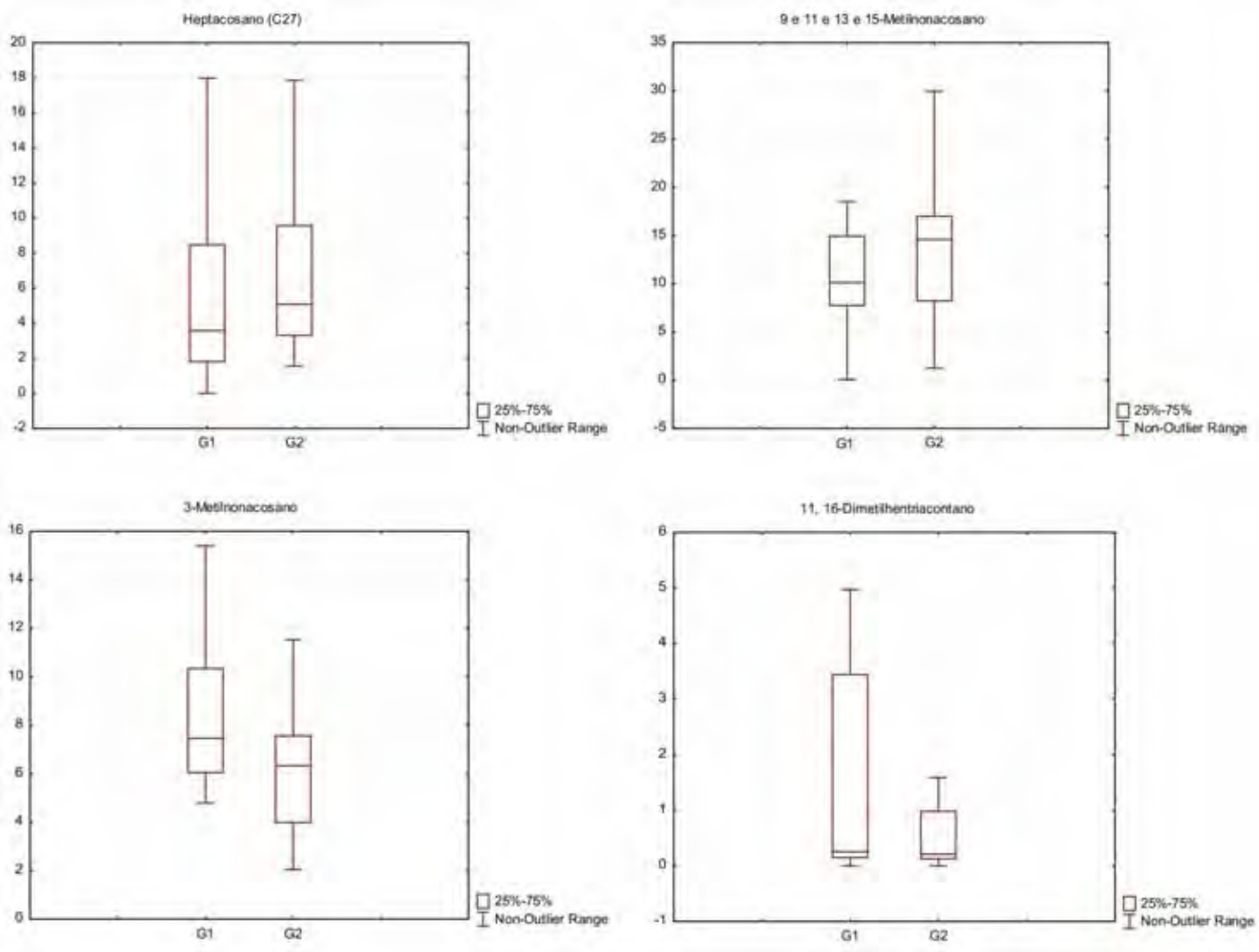


Figura 24. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas inseminadas e não inseminadas em *M. cassununga.*

Tabela 54: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares das fêmeas inseminadas (I) e não inseminadas (I). (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
G1 x G2	3,337293	6,80	*0,000004

c.8) Comparação dos perfis químicos entre os padrões de desenvolvimento ovariano em *Mischocyttarus cassununga*

A análise discriminante *stepwise* aplicada nos indivíduos conforme o padrão de desenvolvimento ovariano, mostrou que é possível separar significantemente quase todos os grupos (Modelo global: Wilks's λ =0.1156, $F_{(56,223)}$ =2.9627, $p < 0.00001$) (Tabela 55). O resultado da MANOVA revelou que, de maneira geral, os perfis cuticulares dos grupos foram significativamente diferentes entre si (F= 645.43, p= 0.0000001). Conforme a análise discriminante, os principais compostos responsáveis pela separação dos indivíduos de acordo com os grupos foram o heptacosano (C27), 3-metilheptacosano, 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 11, 15-dimetilnonacosano, 3-metilnonacosano, 11, 16-dimetilhentriacontano, 5, 17-dimetilhentriacontano e 15, 16-dimetilhentriacontano (Figura 25). Comparando-se os valores das medianas e as variações das proporções nos compostos cuticulares dos grupos, nota-se que o 3-metilheptacosano, o 11, 16-dimetilhentriacontano e o heptacosano (C27) apresentaram as maiores diferenças na concentrações relativa entre as fêmeas.

Os resultados da análise canônica mostraram que existe uma significância para as comparações dos grupos G1 x G4, G1 x G5, G2 x G5, G3 x G5 e G4 x G5 (Tabela 56). Dessa maneira, pode-se notar que as fêmeas com ovários relativamente mais desenvolvidos (G1, G2 e G3) não diferiram no perfil cuticular. Por outro lado, quando compara-se o perfil das fêmeas com ovário menos desenvolvido com o restante dos grupos, a significância é alta.

A classificação da matriz apontou um total de 78,67% de correta alocação dos indivíduos dentro dos grupos esperados (Figura 26).

Tabela 55: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares de acordo com o padrão de desenvolvimento ovariano das fêmeas em *M. cassununga*. (*G*: Grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 11**	***G2*** **N= 13**	***G3*** **N= 8**	***G4*** **N= 10**	***G5*** **N= 33**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	**33.78**	**4,65 ± 5,30**	**5,61 ± 5,43**	**3,44 ± 2,15**	**12,35 ± 14,62**	**10,18 ± 7,75**
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,47 ± 0,40	1,20 ± 1,47	1,03 ± 0,76	0,70 ± 0,62	1,44 ± 1,56
3-Metilheptacosano	**35.51**	**7,78 ± 9,54**	**7,96 ± 8,63**	**5,48 ± 2,89**	**9,11 ± 5,15**	**8,47 ± 3,72**
Nonacosano (C29)	38.40	7,20 ± 8,68	7,37 ± 8,73	3,90 ± 2,39	6,17 ± 5,76	5,25 ± 4,59
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**11,23 ± 6,50**	**10,45 ± 5,20**	**14,01 ± 3,43**	**11,99 ± 8,97**	**13,99 ± 6,18**
7-Metilnonacosano	39.32	3,22 ± 1,83	3,12 ± 1,79	5,39 ± 2,36	3,49 ± 2,68	5,30 ± 3,05
11, 15-Dimetilnonacosano	**39.67**	**2,37 ± 1,45**	**2,65 ± 1,22**	**2,52 ± 1,31**	**2,22 ± 1,53**	**2,77 ± 2,95**
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	2,51 ± 1,66	2,58 ± 1,47	4,02 ± 3,69	1,90 ± 1,39	3,48 ± 3,84
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,04 ± 1,06	1,29 ± 0,85	2,00 ± 0,53	1,05 ± 1,06	1,75 ± 1,41
3-Metilnonacosano	**40.06**	**10,38 ± 8,39**	**10,23 ± 6,21**	**6,47 ± 1,98**	**7,83 ± 3,92**	**6,00 ± 3,26**
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	4,44 ± 6,52	4,93 ± 6,41	3,67 ± 4,94	5,50 ± 6,19	2,93 ± 4,67
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	2,28 ± 2,19	2,11 ± 2,05	2,11 ± 1,53	2,37 ± 1,99	1,43 ± 1,53
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,92 ± 0,82	1,86 ± 0,80	2,12 ± 0,53	1,20 ± 0,78	1,15 ± 0,61
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	3,80 ± 2,18	3,81 ± 2,05	5,03 ± 1,41	3,46 ± 2,07	3,34 ± 1,87
7-Metilhentriacontano	43.59	1,91 ± 1,17	1,95 ± 1,12	2,54 ± 1,33	1,56 ± 1,03	1,86 ± 0,93
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**17,54 ± 12,41**	**15,43 ± 11,21**	**20,39 ± 9,09**	**10,54 ± 10,22**	**11,17 ± 7,01**
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,66 ± 0,69	0,72 ± 0,56	0,84 ± 0,45	1,31 ± 2,55	1,67 ± 2,95
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,31 ± 0,83	1,33 ± 0,87	1,37 ± 0,77	1,45 ± 0,98	1,76 ± 1,91
5, 17-Dimetilhentriacontano	**44.42**	**1,76 ± 2,77**	**1,41 ± 2,39**	**1,41 ± 2,10**	**1,93 ± 2,81**	**1,02 ± 1,83**
15, 16-Dimetilhentriacontano	**45.00**	**1,27 ± 1,86**	**1,46 ± 1,95**	**1,17 ± 1,61**	**1,54 ± 1,86**	**0,74 ± 1,13**

Caracterização dos grupos: *G1*- Fêmeas com ovário muito bem desenvolvido (padrão A); *G2*- Fêmeas com ovário bem desenvolvido (padrão B); *G3*- Fêmeas com ovário bem desenvolvido (padrão C); *G4*- Fêmeas com ovário moderadamente desenvolvido (padrão D); *G5*- Fêmeas com ovário pouco desenvolvido (padrão E).

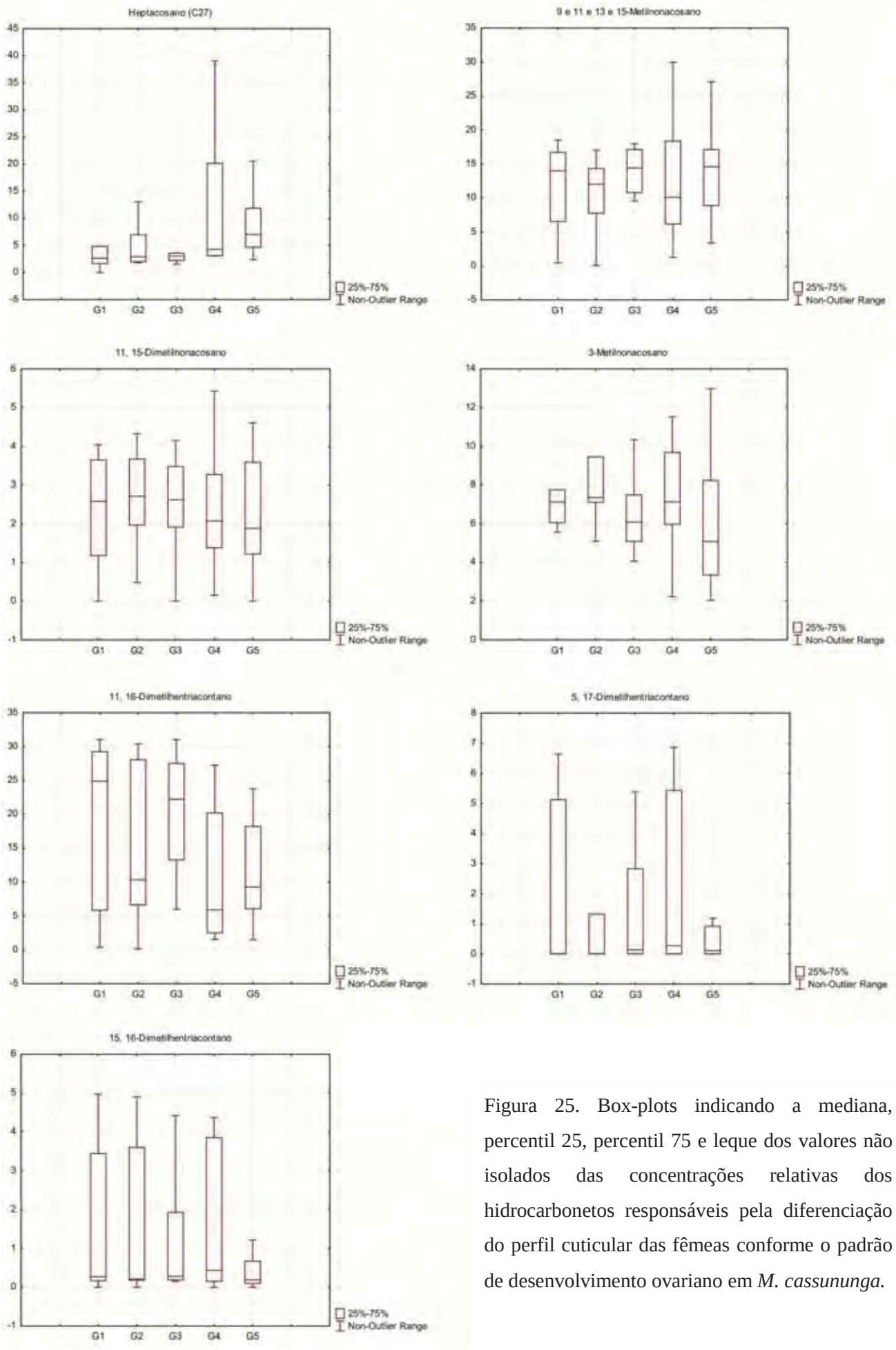


Figura 25. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas conforme o padrão de desenvolvimento ovariano em *M. cassununga.*

Tabela 56: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares no desenvolvimento ovariano. (* significativo para p <0,05)

Combinações	Distância de Mahalanobis	*F*	*P*
G1 x G2	4,53	1,57	0,1
G1 x G3	4,44	1,197	0,3
G1 x G4	9,46	2,88	*0,002
G1 x G5	22,66	10,87	*0,000000
G2 x G3	2,04	0,59	0,8
G2 x G4	4,69	1,54	0,1
G2 x G5	13,51	7,33	*0,000000
G3 x G4	5,58	1,44	0,1
G3 x G5	12,77	4,78	*0,00001
G4 x G5	6,69	2,99	*0,001

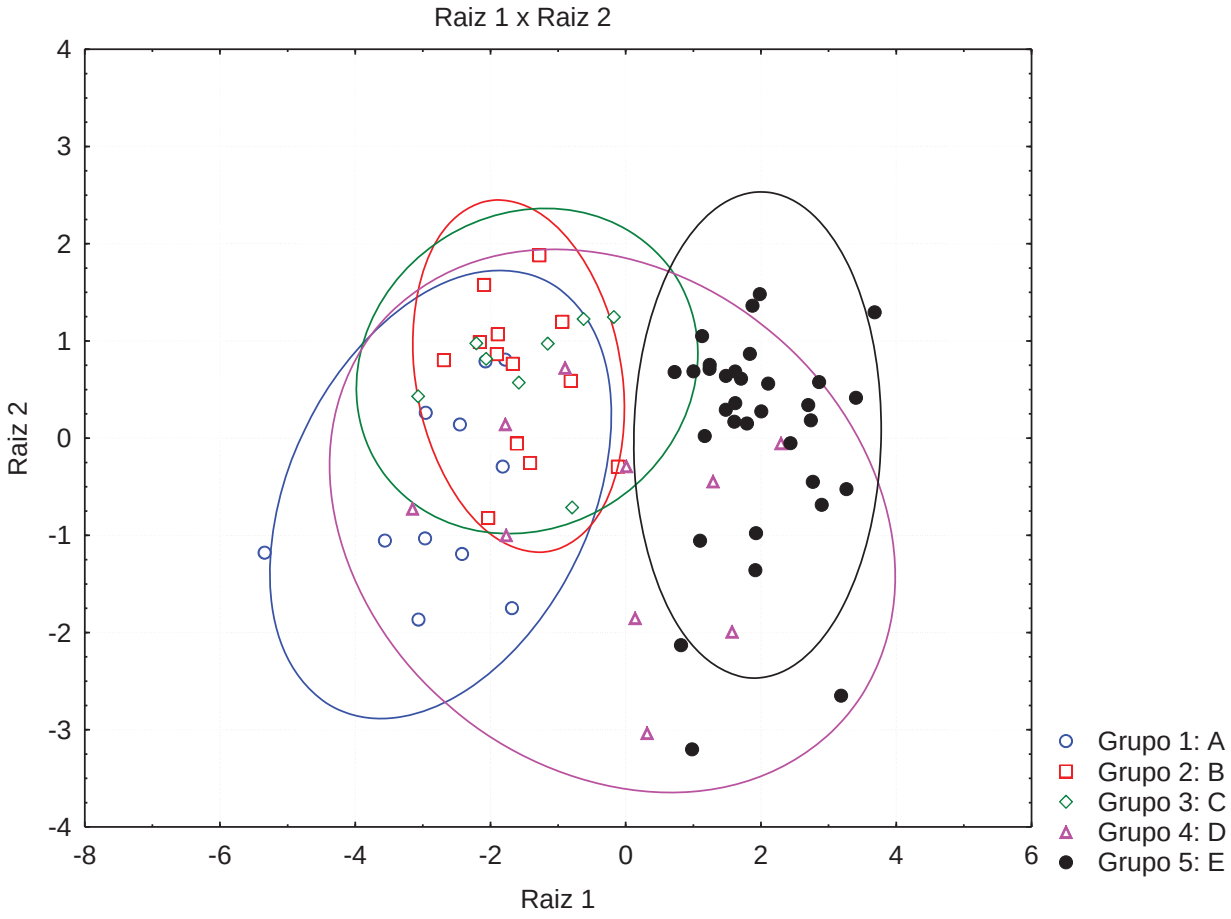


Figura 26. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas em relação ao desenvolvimento ovariano. As duas primeiras raizes da análise canônica representam 90% da variabilidade das amostras. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

c.9) Comparação dos perfis químicos entre as idades relativas em *Mischocyttarus cassununga*

Os resultados mostraram que, através da análise discriminante *stepwise*, não foi possível separar significantemente todos os grupos de acordo com a idade relativa das fêmeas (Modelo global: Wilks's λ =0.5958, $F_{(18,187)}$ =2.0892, $p < 0.007$) (Tabela 57). O resultado da MANOVA mostrou que, de forma geral, os perfis cuticulares dos grupos foram significativamente diferentes (F= 501.32, p= 0.0000001). A análise canônica mostrou que, dentre todos os compostos analisados, o composto 7, 19 e 7, 16-dimetilhentriacontano e 7-metilnonacosano, foram os principais responsáveis por separar o grupo de fêmeas mais velhas (G1 - Preto) do grupo de fêmeas mais jovens (G4 - Amarelo) da colônia (Figura 27 e Tabela 58). O resultado na classificação da matriz apontou somente um total de 60% de correta alocação das fêmeas dentro do grupo esperado (Figura 28).

Tabela 57: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas de acordo com idade relativa em *M. cassununga*. (*G*: grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 32**	***G2*** **N= 7**	***G3*** **N= 8**	***G4*** **N= 28**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	8,62 ± 9,69	9,19 ± 9,00	4,76 ± 1,69	8,32 ± 7,92
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,91 ± 1,04	1,26 ± 1,68	0,79 ± 0,91	1,41 ± 1,51
3-Metilheptacosano	35.51	9,31 ± 7,67	7,24 ± 4,36	7,20 ± 4,28	7,05 ± 4,12
Nonacosano (C29)	38.40	7,12 ± 8,00	5,20 ± 3,11	4,74 ± 3,70	4,96 ± 4,51
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	39.07 - 39.25	10,15 ± 5,50	12,72 ± 3,78	16,71 ± 7,37	14,48 ± 6,42
7-Metilnonacosano	**39.32**	**3,31 ± 1,94**	**4,41 ± 2,37**	**5,43 ± 2,69**	**5,31 ± 3,23**
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	2,22 ± 1,25	3,12 ± 0,85	2,40 ± 1,54	2,94 ± 3,19
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	3,00 ± 2,51	2,94 ± 0,41	2,42 ± 1,16	3,26 ± 4,13
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,14 ± 1,00	1,97 ± 0,66	1,74 ± 0,97	1,72 ± 1,46
3-Metilnonacosano	40.06	9,00 ± 6,63	6,60 ± 1,65	6,33 ± 2,97	6,80 ± 3,85
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	4,74 ± 6,25	2,55 ± 5,25	4,22 ± 6,42	3,24 ± 4,27
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	2,27 ± 2,21	1,51 ± 1,61	1,78 ± 1,54	1,53 ± 1,28
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,58 ± 0,75	1,82 ± 0,80	1,46 ± 0,79	1,32 ± 0,82
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	3,30 ± 2,01	3,77 ± 1,77	4,55 ± 1,45	3,87 ± 2,03
7-Metilhentriacontano	43.59	1,81 ± 1,11	2,18 ± 0,79	2,29 ± 1,36	1,86 ± 0,98
11, 16-Dimetilhentriacontano	43.95	12,64 ± 9,76	19,23 ± 10,68	14,87 ± 9,38	13,30 ± 9,60
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,57 ± 0,53	0,66 ± 0,41	2,50 ± 3,30	1,75 ± 2,97
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	**44.16 - 44.25**	**1,25 ± 0,89**	**0,92 ± 0,80**	**0,99 ± 0,96**	**2,17 ± 1,87**
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	1,86 ± 2,62	0,82 ± 2,04	1,30 ± 2,07	0,94 ± 1,73
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	1,43 ± 1,82	0,70 ± 1,39	0,98 ± 1,43	0,85 ± 1,26

Caracterização dos grupos: *G1*- cor preta: fêmeas mais velhas, *G2*- cor castanho escuro: fêmeas relativamente velhas, *G3*- cor castanho claro: fêmeas jovens e *G4*- cor amarela: fêmeas mais jovens.

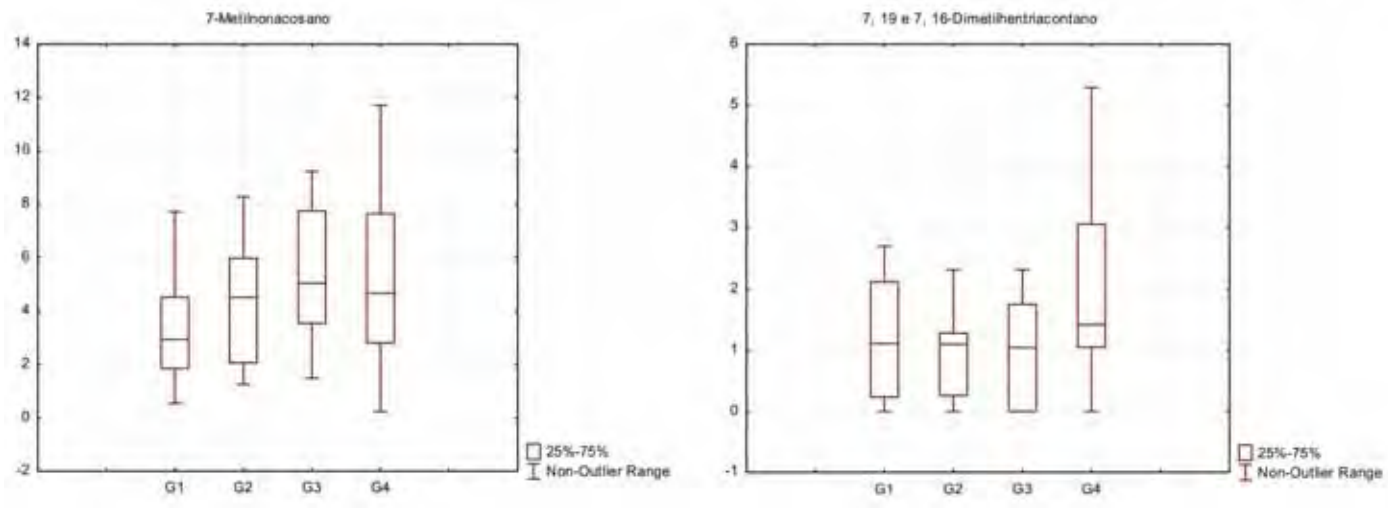


Figura 27. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas conforme a idade relativa em *M. cassununga.*

Tabela 58: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares em relação à idade relativa. (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
Preto X Cast. escuro	0,90	0,88	0,51
Preto X Cast. claro	1,76	1,75	0,12
Preto X Amarelo	1,60	3,69	*0,003
Cast. escuro X Cast. claro	1,48	0,86	0,53
Cast. escuro X Amarelo	2,24	1,94	0,087
Cast. claro X Amarelo	2,18	2,10	0,06

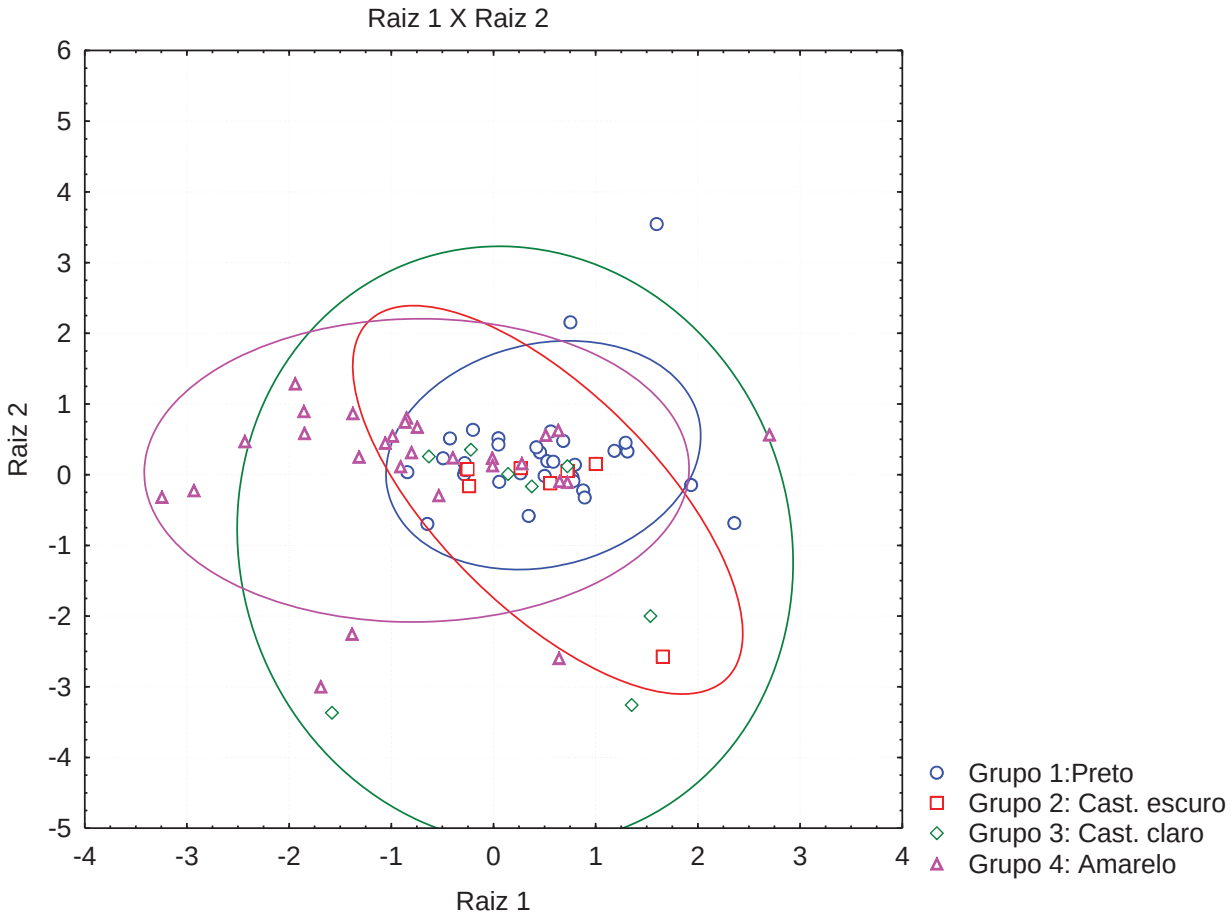


Figura 28. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas em relação à idade relativa. As duas raizes representam 89% da variabilidade das amostras. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

c.10) Comparação dos perfis químicos no desenvolvimento da glândula de Van der Vecht em *Mischocyttarus cassununga*

Por meio da análise discriminante *stepwise* foi possível separar significantemente quase todos os grupos (Modelo global: Wilks's λ =0.3072, $F_{(30,116)}$ =3.1088, $p < 0.00001$) (Tabela 59). De maneira geral, a MANOVA revelou que os perfis dos grupos diferiram significantemente entre si (F= 710.47, p= 0.0000001). Na análise discriminante, os principais compostos responsáveis pela separação das fêmeas nos grupos foram o nonacosano (C29), 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 7-metilnonacosano, 11, 15-dimetilnonacosano, 9 e 11 e 13 e 15-metilhentriacontano, 11, 16-dimetilhentriacontano e 9, 21-dimetilhentriacontano (Figura 29). Os compostos dimetilalcanos apresentaram as maiores variações nas concentrtações entre os grupos de fêmeas.

A análise canônica mostrou que existe uma significância na comparação dos grupos G1 x G3 e G2 x G3 (Tabela 60), onde a classificação da matriz apontou um total de 80% de correta alocação dos indivíduos dentro dos grupos esperados (Figura 30).

Tabela 59: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares das fêmeas de acordo com o desenvolvimento da glândula de Van der Vecht em *M. cassununga*. (*G*: grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 16**	***G2*** **N= 27**	***G3*** **N= 32**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	8,99 ± 10,38	7,77 ± 9,05	8,03 ± 6,86
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,86 ± 0,93	0,99 ± 0,81	1,34 ± 1,70
3-Metilheptacosano	35.51	7,79 ± 4,18	8,14 ± 6,69	8,09 ± 6,18
Nonacosano (C29)	**38.40**	**6,83 ± 7,33**	**5,06 ± 4,67**	**6,10 ± 6,64**
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**10,29 ± 4,80**	**11,58 ± 5,05**	**14,86 ± 7,31**
7-Metilnonacosano	**39.32**	**3,32 ± 2,23**	**3,98 ± 2,29**	**5,26 ± 3,08**
11, 15-Dimetilnonacosano	**39.67**	**2,19 ± 1,20**	**2,87 ± 1,25**	**2,55 ± 3,04**
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	3,23 ± 2,91	2,84 ± 1,37	3,09 ± 3,99
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,04 ± 0,94	1,54 ± 0,94	1,69 ± 1,44
3-Metilnonacosano	40.06	8,70 ± 3,86	7,26 ± 4,81	7,50 ± 5,95
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	6,09 ± 6,34	3,56 ± 5,26	3,14 ± 5,03
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	2,60 ± 2,12	1,95 ± 1,87	1,44 ± 1,45
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,61 ± 0,80	1,78 ± 0,83	1,19 ± 0,64
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	**43.37**	**3,35 ± 1,70**	**3,72 ± 1,89**	**3,83 ± 2,15**
7-Metilhentriacontano	43.59	1,58 ± 1,12	1,91 ± 0,99	2,08 ± 1,08
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**13,20 ± 10,00**	**16,63 ± 10,73**	**11,58 ± 8,30**
9, 21-Dimetilhentriacontano	**44.10**	**0,42 ± 0,54**	**0,77 ± 0,51**	**2,01 ± 3,19**
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,44 ± 0,84	1,45 ± 0,93	1,65 ± 1,92
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	2,17 ± 2,73	1,40 ± 2,22	0,92 ± 1,85
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	1,68 ± 1,84	1,10 ± 1,53	0,80 ± 1,37

Caracterização dos grupos: *G1*- glândula muito desenvolvida, *G2*- glândula moderadamente desenvolvida; *G3*- glândula pouco desenvolvida.

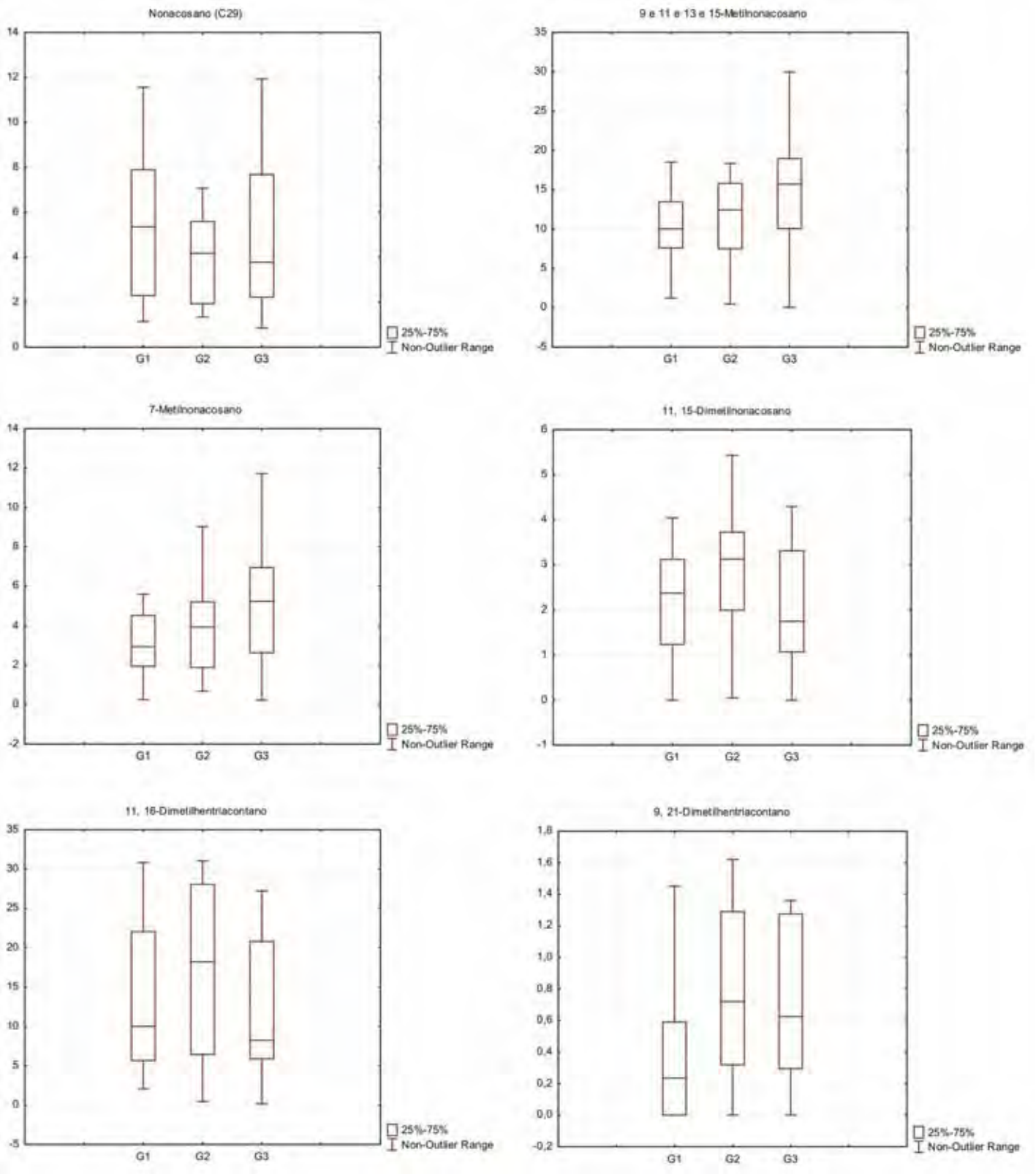


Figura 29: Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas conforme o desenvolvimento da glândula de Van der Vecht em *M. cassununga*.

Tabela 60: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares em relação ao desenvolvimento da glândula de Van der Vecht. (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
Bastante X Moderado	3,02	1,63	0,09
Bastante X Pouco	9,41	5,39	*0,000001
Moderado X Pouco	4,33	3,41	*0,0003

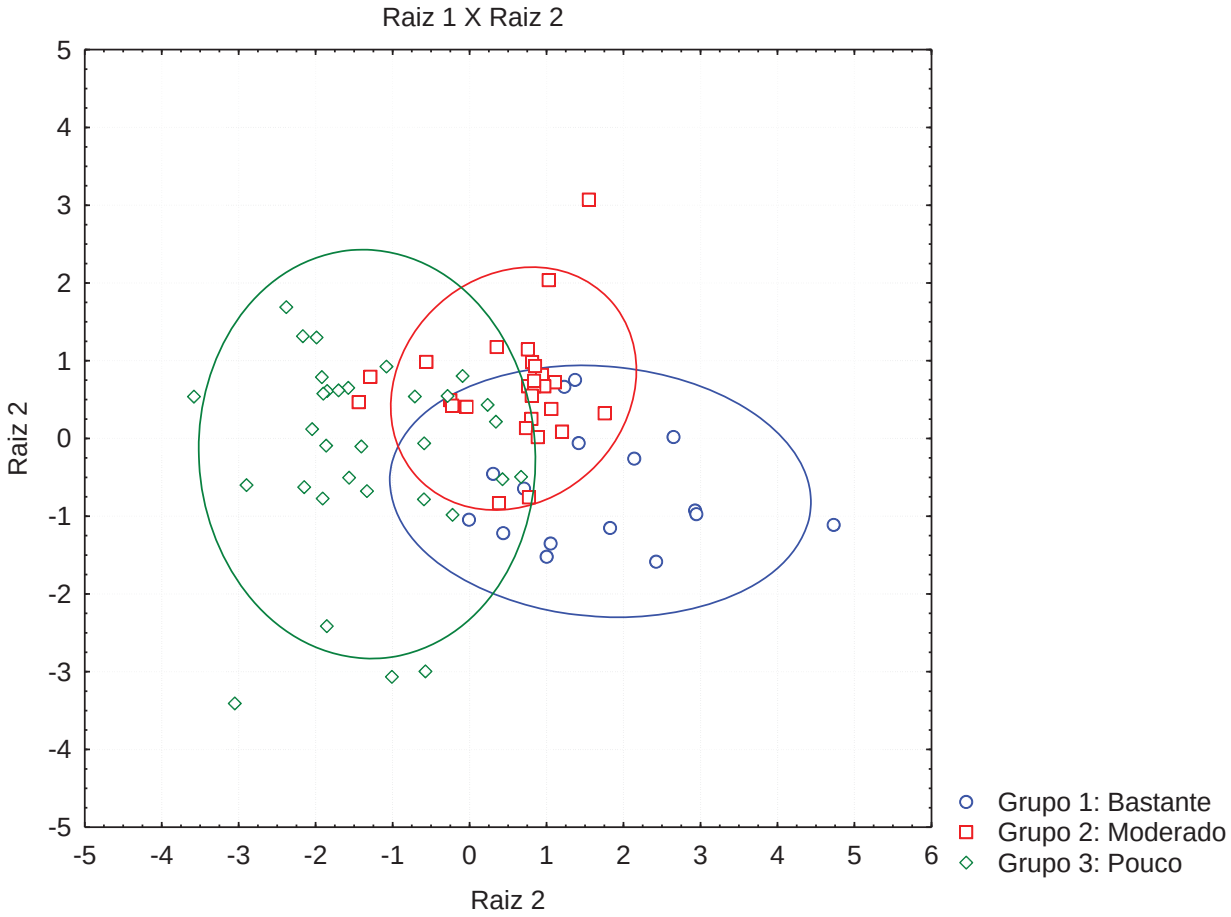


Figura 30. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas em relação ao desenvolvimento da glândula de Van der Vecht. As duas raizes geradas explicam 100% da variabilidade das amostras. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

c.11) Comparação dos perfis químicos na quantidade de corpo gorduroso em *Mischocyttarus cassununga*

Os resultados da análise discriminante *stepwise* mostraram que foi possível separar significantemente quase todos os grupos de diferentes quantidades relativas de corpo gorduroso (Modelo global: Wilks's λ =0.4318, $F_{(16,130)}$ =4.2393, $p < 0.00001$) (Tabela 61). De forma geral, a MANOVA mostrou que os grupos diferiram significantemente em seu perfil cuticular (F= 718.35, p= 0.0000001). Os principais compostos cuticulares responsáveis por separar os grupos (G1 - Bastante x G3 - Pouco e G2 - Moderado x G3 - Pouco) foram o 3-metilheptacosano, 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 3-metilnonacosano, 11, 16-dimetilhentriacontano, 5, 17-dimetilhentriacontano, e 15, 16-dimetilhentriacontano (Tabela 62 e Figura 31). Nota-se que o grupo de fêmeas com maior quantidade relativa aparentemente apresentou uma maior variação destes compostos, e principalmente do dimetilalcanos.

A classificação da matriz apontou um total de 76% de correta alocação das fêmeas (Figura 32).

Tabela 61: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares de acordo com a quantidade relativa de corpo gorduroso presente no gáster das fêmeas em *M. cassununga*. (*G*: grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 15**	***G2*** **N= 28**	***G3*** **N= 32**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	7,90 ± 9,93	6,96 ± 8,17	9,30 ± 7,94
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,75 ± 0,72	0,84 ± 0,69	1,52 ± 1,73
3-Metilheptacosano	**35.51**	**6,49 ± 2,31**	**8,35 ± 6,86**	**8,51 ± 6,28**
Nonacosano (C29)	38.40	8,73 ± 10,69	4,68 ± 3,38	5,59 ± 4,76
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**9,80 ± 5,95**	**12,36 ± 4,98**	**14,38 ± 7,08**
7-Metilnonacosano	39.32	3,03 ± 2,24	4,49 ± 2,46	4,93 ± 3,01
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	2,46 ± 1,22	2,56 ± 1,30	2,67 ± 3,04
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	2,41 ± 1,11	3,17 ± 2,50	3,19 ± 3,93
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,36 ± 1,00	1,43 ± 0,88	1,63 ± 1,50
3-Metilnonacosano	**40.06**	**10,27 ± 6,22**	**7,06 ± 4,61**	**6,99 ± 4,75**
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	5,89 ± 7,03	4,29 ± 5,06	2,67 ± 4,78
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	2,58 ± 2,21	1,96 ± 1,72	1,46 ± 1,57
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,58 ± 0,73	1,74 ± 0,84	1,24 ± 0,70
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	3,22 ± 1,93	4,11 ± 1,91	3,53 ± 1,99
7-Metilhentriacontano	43.59	1,87 ± 1,27	1,90 ± 1,09	1,94 ± 0,94
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**13,40 ± 10,71**	**16,53 ± 10,46**	**11,46 ± 8,15**
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,54 ± 0,54	0,66 ± 0,55	2,03 ± 3,18
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,46 ± 0,90	1,62 ± 1,20	1,50 ± 1,78
5, 17-Dimetilhentriacontano	**44.42**	**1,87 ± 2,76**	**1,60 ± 2,23**	**0,91 ± 1,88**
15, 16-Dimetilhentriacontano	**45.00**	**1,65 ± 2,07**	**1,23 ± 1,54**	**0,71 ± 1,19**

Caracterização dos grupos: *G1*- bastante quantidade relativa, *G2*- moderada quantidade relativa; *G3*- pouca quantidade relativa.

Tabela 62: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares em relação à quantidade de corpo gorduroso. (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
Bastante X Moderado	1,35	1,49	0,177
Bastante X Pouco	6,41	7,39	*0,000001
Moderado X Pouco	3,16	5,32	*0,00003

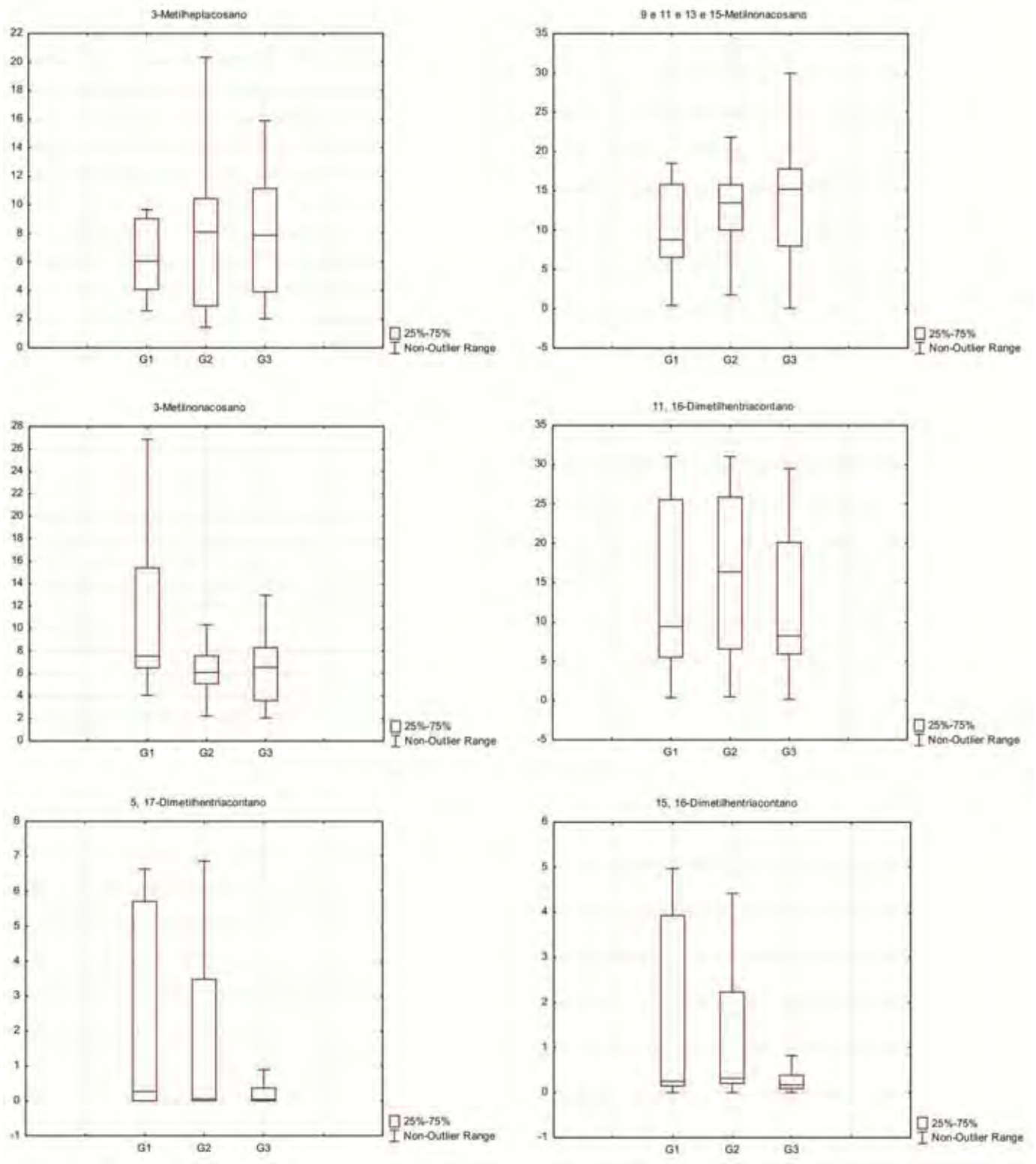


Figura 31. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas conforme a quantidade de corpo gorduroso em *M. cassununga*.

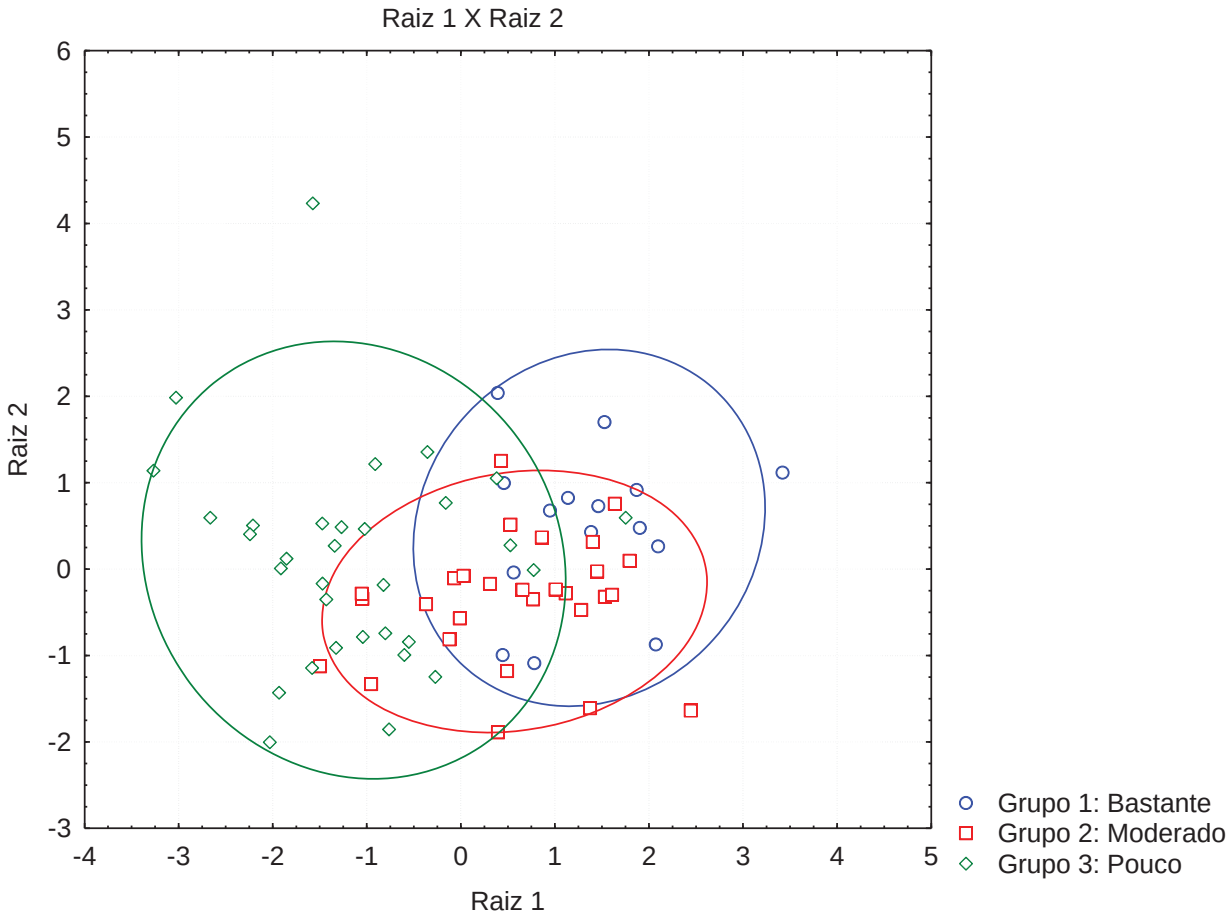


Figura 32. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas em relação à quantidade de corpo gorduroso. As duas raizes juntas representam 100% da variabilidade das amostras neste caso. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

c.12) Comparação dos perfis químicos conforme o estado fisiológico geral das fêmeas em *Mischocyttarus cassununga*

A análise discriminante *stepwise* mostrou que foi possível separar significantemente quase todos os grupos analisados (Modelo global: Wilks's λ =0.08887, $F_{(52,215)}$ =3.5918, p < 0.0000) (Tabela 63). Os resultados da MANOVA mostraram que, de maneira geral, os grupos diferiram significativamente no perfil cuticular (F= 811.42, p= 0.0000001). Os compostos cuticulares responsáveis por separar os grupos foram o 3-metilheptacosano, nonacosano (C29), 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 11, 15-dimetilnonacosano, 9, 15 e 9, 16-dimetilnonacosano, 3-metilnonacosano, 9 e 11 e 13 e 15-metilhentriacontano, 11, 16-

dimetilhentriacontano, 5, 17-dimetilhentriacontano (Figura 33). Nesta análise, pode-se perceber que a variação das medianas (distâncias entre os valores centrais) entre os grupos comparados foi maior do que nas demais análises.

O resultado da análise canônica para todas as combinações possíveis entre os grupos mostrou que as fêmeas dos grupos G4 e G5 foram as que estatisticamente mais diferiram dos demais grupos (Tabela 64).

A classificação da matriz apomtou um total de 77,78% de correta alocação dos indivíduos nos grupos previstos (Figura 34).

Tabela 63: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares de acordo com o estado fisiológico geral das fêmeas em *M. cassununga*. (*G*: grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 20**	***G2*** **N= 10**	***G3*** **N= 9**	***G4*** **N= 9**	***G5*** **N= 24**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	5,55 ± 5,37	2,51 ± 0,72	13,10 ± 15,30	13,96 ± 8,55	8,76 ± 7,11
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,79 ± 0,81	0,74 ± 0,51	0,66 ± 0,64	1,53 ± 1,09	1,41 ± 1,72
3-Metilheptacosano	**35.51**	**7,10 ± 7,17**	**4,63 ± 2,52**	**9,11 ± 5,46**	**10,54 ± 3,26**	**7,69 ± 3,64**
Nonacosano (C29)	**38.40**	**8,20 ± 9,10**	**3,43 ± 1,61**	**6,70 ± 5,84**	**5,67 ± 3,81**	**5,09 ± 4,92**
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**10,92 ± 5,52**	**14,31 ± 3,26**	**11,68 ± 9,45**	**9,95 ± 4,06**	**15,50 ± 6,22**
7-Metilnonacosano	39.32	3,43 ± 2,15	4,70 ± 1,87	2,93 ± 2,14	3,96 ± 2,40	5,80 ± 3,15
11, 15-Dimetilnonacosano	**39.67**	**2,43 ± 1,25**	**3,17 ± 0,85**	**1,86 ± 1,09**	**2,43 ± 1,30**	**2,89 ± 3,39**
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	**39.71 - 39.83**	**2,45 ± 1,29**	**3,10 ± 1,40**	**1,61 ± 1,11**	**3,08 ± 1,21**	**3,63 ± 4,46**
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	39.87 - 39.93	1,31 ± 0,98	1,68 ± 0,74	0,97 ± 1,09	1,49 ± 1,18	1,85 ± 1,51
3-Metilnonacosano	**40.06**	**10,14 ± 6,77**	**6,50 ± 1,12**	**8,45 ± 3,59**	**5,54 ± 2,14**	**6,17 ± 3,62**
13, 15-Dimetilnonacosano	40.59 - 40.70	4,68 ± 6,27	3,85 ± 5,78	5,93 ± 6,41	2,94 ± 4,86	2,92 ± 4,70
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	2,22 ± 2,05	1,95 ± 1,50	2,48 ± 2,08	1,77 ± 2,26	1,30 ± 1,20
11, 15-Dimetiltriacontano	41.79	1,81 ± 0,74	2,27 ± 0,65	1,08 ± 0,72	1,11 ± 0,61	1,16 ± 0,63
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	**43.37**	**3,85 ± 2,08**	**5,00 ± 1,20**	**3,47 ± 2,20**	**2,27 ± 0,83**	**3,75 ± 2,01**
7-Metilhentriacontano	43.59	2,11 ± 1,27	2,27 ± 0,99	1,46 ± 1,04	1,58 ± 0,77	1,96 ± 0,97
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**16,00 ± 10,93**	**23,05 ± 8,76**	**9,46 ± 10,22**	**10,41 ± 6,60**	**11,45 ± 7,27**
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,63 ± 0,59	1,05 ± 0,39	1,38 ± 2,69	0,44 ± 0,40	2,14 ± 3,35
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,29 ± 0,89	1,47 ± 0,57	1,48 ± 1,04	1,55 ± 1,30	1,84 ± 2,11
5, 17-Dimetilhentriacontano	**44.42**	**1,50 ± 2,50**	**1,51 ± 2,38**	**2,04 ± 2,96**	**1,90 ± 2,58**	**0,70 ± 1,38**
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	1,36 ± 1,86	1,22 ± 1,79	1,66 ± 1,93	0,89 ± 1,12	0,69 ± 1,15

Caracterização dos grupos: *G1*- Fêmeas inseminadas (I), maioria com ovário muito ou bem desenvolvido (padrões A, B ou C), com a Glândula de Van der Vecht bastante ou moderadamente desenvolvida, e com quantidade relativa alta ou moderada de corpo gorduroso; *G2*- Fêmeas não inseminadas (NI), com ovário bem desenvolvido (padrões B ou C), maioria com moderado desenvolvimento da Glândula de Van der Vecht, e maioria com quantidade relativa alta ou média de corpo gorduroso; *G3*- Fêmeas não inseminadas (NI), com desenvolvimento moderado do ovário (padrão D), maioria com pouco ou moderado desenvolvimento da Glândula de Van der Vecht, e maioria com moderada ou pouca quantidade relativa de corpo gorduroso; *G4*- Fêmeas não inseminadas (NI), com ovário pouco desenvolvido (padrão E), maioria com moderado desenvolvimento da Glândula de Van der Vecht, e maioria com pouca quantidade relativa de corpo gorduroso; *G5*- Fêmeas não inseminadas (NI), com ovário pouco desenvolvido (padrão E), maioria com a Glândula de Van der Vecht pouco desenvolvida, e maioria com pouca quantidade relativa de corpo gorduroso.

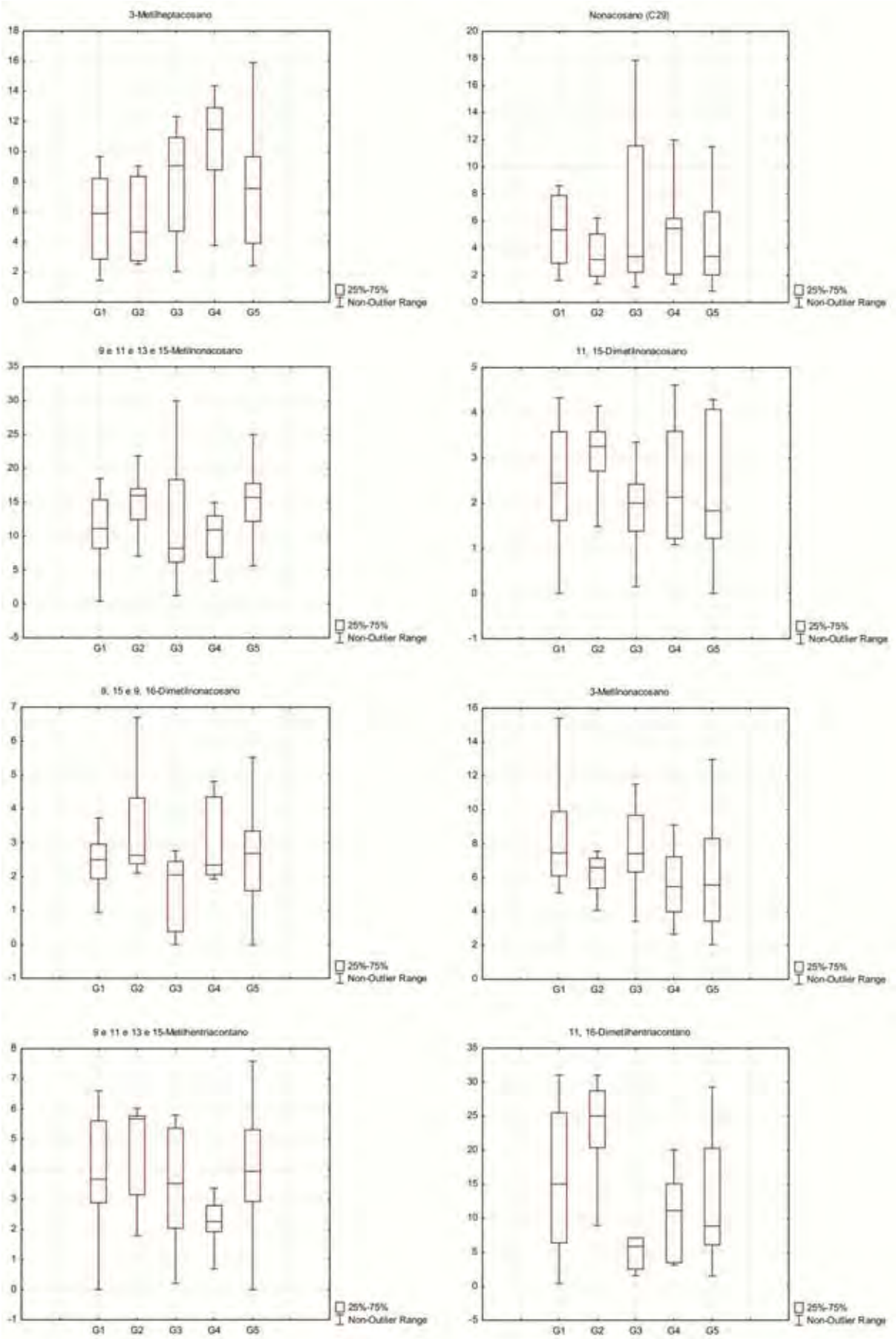


Figura 33. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas conforme o estado fisiológico em *M. cassununga.*

Tabela 64: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares em relação ao estado fisiológico geral do indivíduo. (* significativo para p <0,05)

Combinações	Distância de Mahalanobis	*F*	*P*
G1 x G2	1,61	0,68	0,7
G1 x G3	3,06	1,20	0,3
G1 x G4	22,81	8,94	*0,000000
G1 x G5	16,18	11,15	*0,000000
G2 x G3	4,97	1,49	0,1
G2 x G4	22,82	6,83	*0,000000
G2 x G5	14,39	6,42	*0,000000
G3 x G4	17,68	5,02	*0,00001
G3 x G5	10,60	4,38	*0,00005
G4 x G5	6,36	2,63	*0,006

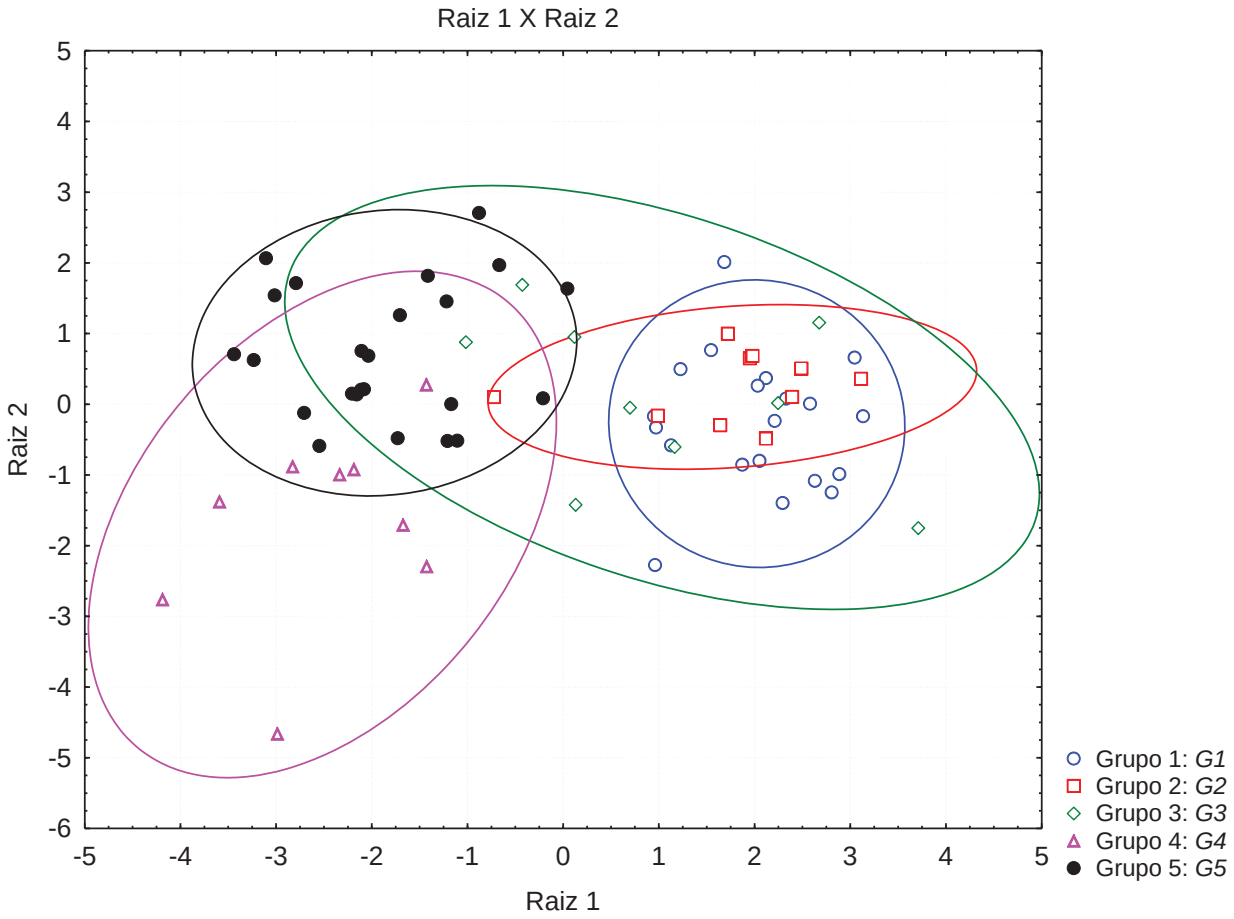


Figura 34. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas em relação ao estado fisiológico. As duas raizes representam 92% da variabilidade das amostras neste caso. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

c.13) Comparação dos perfis químicos conforme o estado fisiológico geral das fêmeas nas subfases pré-macho e pós-macho em *Mischocyttarus cassununga*

Os resultados da análise discriminante *stepwise* mostraram que foi possível separar significantemente quase todos os grupos analisados (Modelo global: Wilks's λ =0.0166, $F_{(117,387)}$ =2.4144, $p < 0.00001$) (Tabelas 65 e 66). De forma geral, a MANOVA revelou que os perfis cuticulares dos grupos diferiram significantemente entre si (F =751.06, p = 0.00001). De acordo com a análise discriminate a diferenças foram baseadas no contraste entre os compostos 3-metilheptacosano, nonacosano (C29), 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 13, 15-dimetilnonacosano, 7, 15 e 7, 18-dimetilnonacosano, 3-metilnonacosano, 11, 15-dimetiltriacontano e 11, 16-dimetilhentriacontano (Figura 35). Nota-se que existe uma grande variação nas proporções (= concentrações relativas) dos hidrocarbonetos cuticulares entre os grupos de fêmeas, e que estas foram relativamente maiores quando comparadas com as concentrações relativas dos dimetilalcanos, seguidos pela de metilalcanos. O único composto que aparentemente foi mais homogêneo entre os grupos, com exceção do G6, foi o nonacosano (C29). Além disso, similarmente aos resultados da divisão de tarefas na ontogenia colonial, o grupo de fêmeas dominante na subfase pós-macho (G6) apresentou uma maior variação relativa das concentrações destes compostos.

O resultado da análise canônica para todas as combinações possíveis entre os grupos mostrou que, tanto na comparação das fêmeas de mesma subfase (pré-macho x pré-macho ou pós-macho x pós-macho) quanto de subfases diferentes (pré-macho x pós-macho), os grupos de fêmeas que foram mais próximas ou similares fisiologicamente não se separaram tanto pelo nível de significância da discriminante (ex: G1 + G2 + G3 e G4 + G5 na subfase pré-macho; G6 + G7 +G8 e G9 + G10 na subfase pós-macho). (Tabela 67). Grande parte dos resultados ainda mostrou que existe uma certa similaridade dos grupos de subfases diferentes

(ex: G1 x G6, G1 x G7, G2 x G7, G5 x G9, G5 x G10), mas não entre todos, como por exemplo, G4 x G5, G4 x G9 e G6 x G8.

A classificação da matriz apontou um total de 73,61% de correta alocação dos indivíduos nos grupos previstos (Figura 36).

Tabela 65: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares de acordo com o estado fisiológico das fêmeas na subfase pré-macho em *M. cassununga*. (*G*: grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G1*** **N= 12**	***G2*** **N= 7**	***G3*** **N= 6**	***G4*** **N= 4**	***G5*** **N= 20**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	3,08 ± 2,12	3,69 ± 3,10	3,53 ± 0,60	11,16 ± 7,00	9,21 ± 7,72
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,76 ± 0,78	0,81 ± 0,51	0,49 ± 0,40	1,68 ± 0,71	1,47 ± 1,87
3-Metilheptacosano	**35.51**	**5,41 ± 2,70**	**6,34 ± 2,62**	**6,98 ± 4,07**	**13,05 ± 0,97**	**7,79 ± 3,64**
Nonacosano (C29)	**38.40**	**4,37 ± 2,35**	**2,75 ± 1,31**	**3,97 ± 4,00**	**3,80 ± 2,44**	**5,11 ± 5,25**
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**12,44 ± 3,96**	**14,18 ± 4,71**	**15,99 ± 8,55**	**6,94 ± 3,11**	**15,55 ± 6,67**
7-Metilnonacosano	39.32	4,23 ± 2,20	5,09 ± 2,39	3,83 ± 2,05	2,75 ± 2,16	5,88 ± 3,24
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	2,60 ± 1,04	2,97 ± 0,88	1,94 ± 1,23	1,41 ± 0,49	3,07 ± 3,66
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	2,93 ± 1,14	3,89 ± 1,89	2,11 ± 0,88	2,31 ± 0,62	3,90 ± 4,85
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	**39.87 - 39.93**	**1,31 ± 0,91**	**1,50 ± 0,83**	**1,44 ± 1,04**	**1,01 ± 1,18**	**2,03 ± 1,57**
3-Metilnonacosano	**40.06**	**7,38 ± 1,42**	**5,46 ± 1,79**	**6,53 ± 1,91**	**5,40 ± 2,66**	**6,05 ± 3,74**
13, 15-Dimetilnonacosano	**40.59 - 40.70**	**6,50 ± 7,16**	**5,33 ± 6,46**	**7,22 ± 7,50**	**5,48 ± 6,82**	**2,65 ± 4,46**
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	2,89 ± 2,13	2,02 ± 1,87	2,97 ± 2,29	3,09 ± 3,06	1,21 ± 1,00
11, 15-Dimetiltriacontano	**41.79**	**1,88 ± 0,69**	**1,88 ± 0,70**	**1,35 ± 0,75**	**0,74 ± 0,52**	**1,20 ± 0,67**
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	4,33 ± 1,32	4,18 ± 1,68	4,78 ± 1,06	1,93 ± 0,87	3,60 ± 2,12
7-Metilhentriacontano	43.59	2,02 ± 1,36	1,81 ± 1,20	1,66 ± 1,12	1,21 ± 1,07	1,96 ± 0,98
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**18,11 ± 9,58**	**20,15 ± 9,28**	**13,17 ± 10,85**	**5,70 ± 4,73**	**11,92 ± 7,73**
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,62 ± 0,53	0,77 ± 0,52	2,06 ± 3,15	0,33 ± 0,18	1,99 ± 3,12
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	1,58 ± 0,78	1,50 ± 0,85	1,65 ± 1,13	2,03 ± 1,35	1,65 ± 2,17
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	2,09 ± 2,88	2,16 ± 2,62	3,07 ± 3,20	3,86 ± 2,86	0,56 ± 1,19
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	1,87 ± 2,08	1,62 ± 2,05	2,13 ± 2,21	1,71 ± 1,27	0,62 ± 1,09

Caracterização dos grupos: Subfase Pré-macho: *G1*- Fêmeas inseminadas (I), maioria com ovário muito ou bem desenvolvido (padrões A, B ou C), com a Glândula de Van der Vecht bastante ou moderadamente desenvolvida, e com quantidade relativa alta ou moderada de corpo gorduroso; *G2*- Fêmeas não inseminadas (NI), com ovário bem desenvolvido (padrões B ou C), maioria com moderado desenvolvimento da Glândula de Van der Vecht, e maioria com quantidade relativa alta ou média de corpo gorduroso; *G3*- Fêmeas não inseminadas (NI), com desenvolvimento moderado do ovário (padrão D), maioria com pouco ou moderado desenvolvimento da Glândula de Van der Vecht, e maioria com moderada ou pouca quantidade relativa de corpo gorduroso; *G4*- Fêmeas não inseminadas (NI), com ovário pouco desenvolvido (padrão E), maioria com moderado desenvolvimento da Glândula de Van der Vecht, e maioria com pouca quantidade relativa de corpo gorduroso; *G5*- Fêmeas não inseminadas (NI), com ovário pouco desenvolvido (padrão E), maioria com a Glândula de Van der Vecht pouco desenvolvida, e maioria com pouca quantidade relativa de corpo gorduroso.

Tabela 66: Valores médios e desvio padrão da concentração relativa dos compostos cuticulares de acordo com o estado fisiológico das fêmeas na subfase pós-macho em *M. cassununga*. (*G*: grupo; M ± DP: Média e Desvio Padrão).

COMPOSTOS	**Tempo de retenção**	***G6*** **N= 8**	***G7*** **N= 3**	***G8*** **N= 3**	***G9*** **N= 5**	***G10*** **N= 4**
		M ± DP	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**	**M ± DP**
Heptacosano (C27)	33.78	9,27 ± 6,70	2,49 ± 0,95	32,24 ± 10,50	16,20 ± 9,77	6,52 ± 1,40
7, 16-Dimetilheptacosano	35.33	0,84 ± 0,89	0,74 ± 0,51	1,00 ± 0,99	1,41 ± 1,41	1,09 ± 0,53
3-Metilheptacosano	**35.51**	**9,63 ± 10,76**	**2,83 ± 0,35**	**13,38 ± 6,07**	**8,54 ± 3,05**	**7,17 ± 4,12**
Nonacosano (C29)	**38.40**	**13,93 ± 12,39**	**5,15 ± 1,03**	**12,17 ± 5,41**	**7,17 ± 4,28**	**4,98 ± 3,27**
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano	**39.07 - 39.25**	**8,64 ± 6,95**	**16,63 ± 0,44**	**3,05 ± 2,70**	**12,36 ± 3,06**	**15,27 ± 3,86**
7-Metilnonacosano	39.32	2,24 ± 1,50	4,36 ± 0,38	1,14 ± 0,78	4,93 ± 2,33	5,40 ± 3,08
11, 15-Dimetilnonacosano	39.67	2,16 ± 1,56	3,28 ± 0,50	1,72 ± 0,98	3,25 ± 1,14	2,04 ± 1,36
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano	39.71 - 39.83	1,72 ± 1,22	2,43 ± 0,10	0,61 ± 0,88	3,70 ± 1,26	2,25 ± 0,85
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano	**39.87 - 39.93**	**1,31 ± 1,15**	**2,11 ± 0,16**	**0,02 ± 0,03**	**1,87 ± 1,15**	**0,95 ± 0,64**
3-Metilnonacosano	**40.06**	**14,30 ± 9,39**	**7,23 ± 0,16**	**12,29 ± 3,07**	**5,66 ± 1,96**	**6,80 ± 3,34**
13, 15-Dimetilnonacosano	**40.59 - 40.70**	**1,96 ± 3,47**	**0,52 ± 0,06**	**3,34 ± 2,88**	**0,91 ± 0,82**	**4,28 ± 6,38**
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano	41.24 - 41.35	1,21 ± 1,53	1,56 ± 0,13	1,49 ± 1,40	0,72 ± 0,32	1,79 ± 2,06
11, 15-Dimetiltriacontano	**41.79**	**1,70 ± 0,85**	**2,68 ± 0,31**	**0,54 ± 0,22**	**1,41 ± 0,55**	**0,97 ± 0,32**
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano	43.37	3,14 ± 2,83	5,70 ± 0,06	0,85 ± 1,03	2,55 ± 0,78	4,48 ± 1,25
7-Metilhentriacontano	43.59	2,26 ± 1,20	2,65 ± 0,56	1,06 ± 0,91	1,87 ± 0,31	1,99 ± 1,08
11, 16-Dimetilhentriacontano	**43.95**	**12,84 ± 12,70**	**27,95 ± 1,61**	**2,05 ± 0,49**	**14,18 ± 5,50**	**9,15 ± 4,21**
9, 21-Dimetilhentriacontano	44.10	0,65 ± 0,71	1,36 ± 0,04	0,01 ± 0,01	0,52 ± 0,52	2,91 ± 4,87
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano	44.16 - 44.25	0,85 ± 0,91	1,04 ± 0,09	1,16 ± 0,94	1,17 ± 1,26	2,75 ± 1,71
5, 17-Dimetilhentriacontano	44.42	0,63 ± 1,59	0,001 ± 0,00	0,001 ± 0,00	0,33 ± 0,49	1,40 ± 2,23
15, 16-Dimetilhentriacontano	45.00	0,61 ± 1,22	0,21 ± 0,08	0,71 ± 0,78	0,23 ± 0,26	1,02 ± 1,55

Caracterização dos grupos: Subfase Pós-macho: *G1*- Fêmeas inseminadas (I), maioria com ovário muito ou bem desenvolvido (padrões A, B ou C), com a Glândula de Van der Vecht bastante ou moderadamente desenvolvida, e com quantidade relativa alta ou moderada de corpo gorduroso; *G2*- Fêmeas não inseminadas (NI), com ovário bem desenvolvido (padrões B ou C), maioria com moderado desenvolvimento da Glândula de Van der Vecht, e maioria com quantidade relativa alta ou média de corpo gorduroso; *G3*- Fêmeas não inseminadas (NI), com desenvolvimento moderado do ovário (padrão D), maioria com pouco ou moderado desenvolvimento da Glândula de Van der Vecht, e maioria com moderada ou pouca quantidade relativa de corpo gorduroso; *G4*- Fêmeas não inseminadas (NI), com ovário pouco desenvolvido (padrão E), maioria com moderado desenvolvimento da Glândula de Van der Vecht, e maioria com pouca quantidade relativa de corpo gorduroso; *G5*- Fêmeas não inseminadas (NI), com ovário pouco desenvolvido (padrão E), maioria com a Glândula de Van der Vecht pouco desenvolvida, e maioria com pouca quantidade relativa de corpo gorduroso.

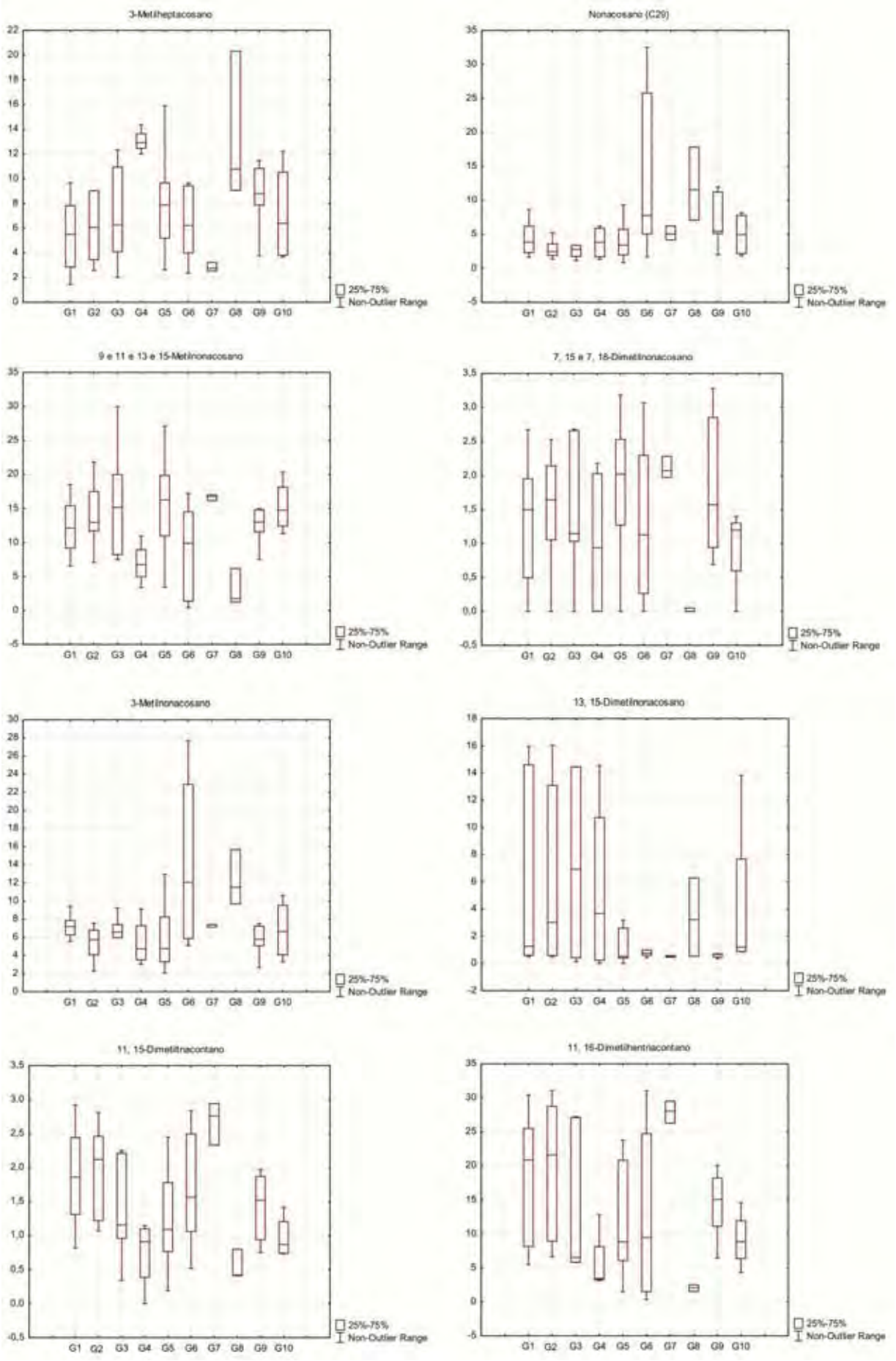


Figura 35. Box-plots indicando a mediana, percentil 25, percentil 75 e leque dos valores não isolados das concentrações relativas dos hidrocarbonetos responsáveis pela diferenciação do perfil cuticular das fêmeas conforme o estado fisiológico na ontogenia colonial em *M. cassununga.*

Tabela 67: Distância Mahalanobis, *F*, e valor de *p* nas comparações dos compostos cuticulares em relação ao o estado fisiológico do indivíduo ao longo da ontogenia colonial. (* significativo para p <0,05)

Combinações	**Distância de Mahalanobis**	***F***	***P***
G1 x G2	3,52066	0,96	0,4
G1 x G3	5,34533	1,33	0,2
G1 x G4	41,03133	7,64	*0,000000
G1 x G5	13,51389	6,40	*0,000001
G1 x G6	5,45196	1,62	0,1
G1 x G7	3,28689	0,49	0,9
G1 x G8	23,12364	3,44	*0,0007
G1 x G9	16,88771	3,69	*0,0004
G1 x G10	16,28374	2,42	*0,01
G2 x G3	4,65072	0,93	0,5
G2 x G4	48,12555	7,59	*0,000000
G2 x G5	13,52522	4,40	*0,00006
G2 x G6	8,57245	1,98	*0,04
G2 x G7	5,11768	0,67	0,7
G2 x G8	34,93184	4,55	*0,00004
G2 x G9	18,37427	3,32	*0,001
G2 x G10	15,50540	2,02	*0,03
G3 x G4	40,66443	6,05	*0,000001
G3 x G5	8,12197	2,35	*0,01
G3 x G6	9,39511	1,99	*0,04
G3 x G7	8,70641	1,08	0,3
G3 x G8	32,28784	4,00	*0,0001
G3 x G9	12,62748	2,14	*0,02
G3 x G10	9,01254	1,12	0,3
G4 x G5	23,56247	4,91	*0,00001
G4 x G6	44,09665	7,29	*0,000000
G4 x G7	47,90445	5,09	*0,00001
G4 x G8	36,73502	3,91	*0,0002
G4 x G9	20,44092	2,82	*0,004
G4 x G10	28,69427	3,05	*0,002
G5 x G6	15,40483	5,54	*0,000004
G5 x G7	13,74681	2,24	*0,02
G5 x G8	28,86552	4,70	*0,00003

Continuação da tabela 67.

Combinações	Distância de Mahalanobis	*F*	*P*
G5 x G9	4,40037	1,10	0,3
G5 x G10	3,78386	0,62	0,8
G6 x G7	6,84539	0,93	0,5
G6 x G8	16,53952	2,24	*0,02
G6 x G9	14,19610	2,71	*0,005
G6 x G10	16,05050	2,17	*0,02
G7 x G8	28,12848	2,62	*0,007
G7 x G9	16,53170	1,92	*0,04
G7 x G10	16,15142	1,50	0,1
G8 x G9	27,00840	3,14	*0,001
G8 x G10	36,67257	3,41	*0,0008
G9 x G10	4,17899	0,48	0,9

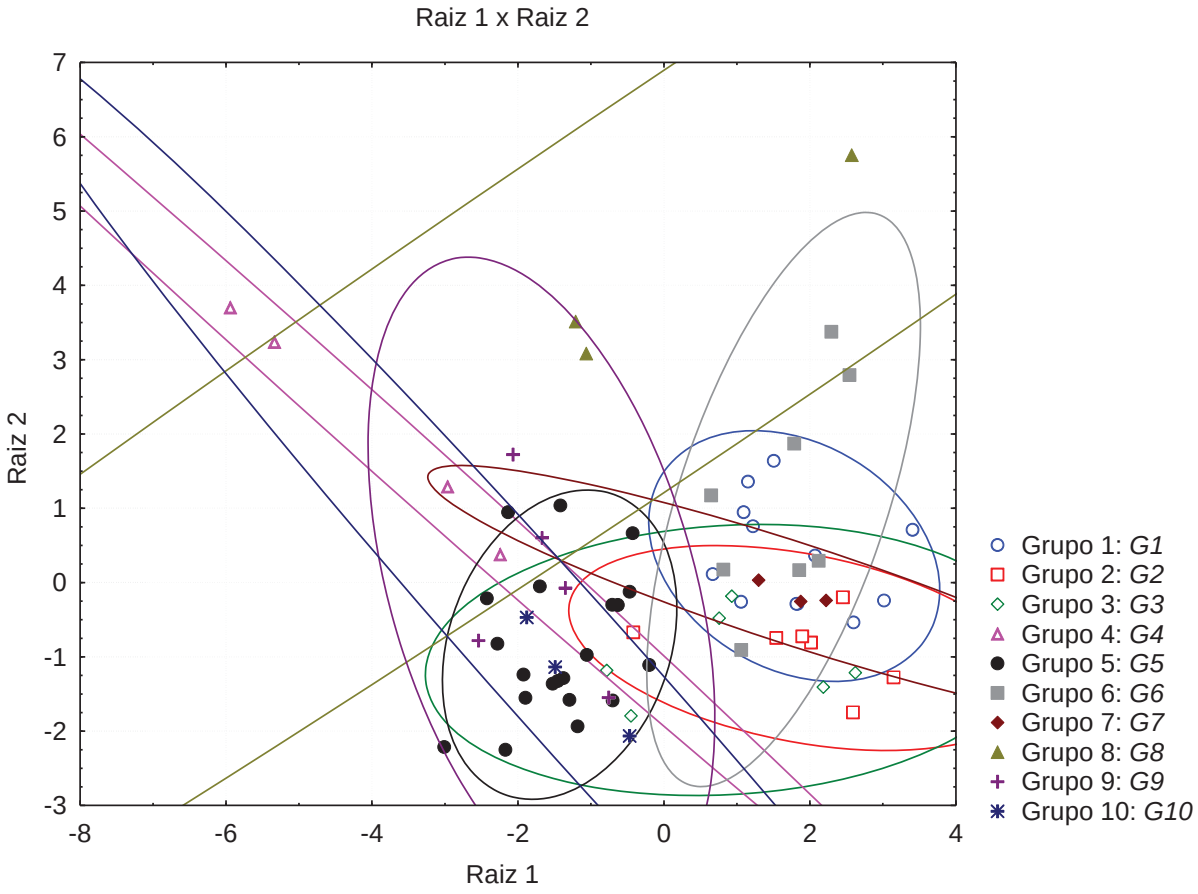


Figura 36. Análise canônica dos compostos cuticulares das fêmeas em relação ao estado fisiológico na ontogenia colonial. As duas raizes representam 74,91% da variabilidade das amostras neste caso. Intervalo de confiança= 85% (Elipses).

DISCUSSÃO

Discussão

a) Hierarquia social de dominância em *Mischocyttarus cassununga*

Vários aspectos da organização têm sido amplamente estudados na presente espécie, e sem dúvida é caracterizada por uma hierarquia de dominância bastante estável e com elevada longevidade da rainha (= fêmea dominante reprodutiva) na colônia (MURAKAMI, 2003, MURAKAMI & SHIMA, 2006; MURAKAMI & SHIMA, 2009). Em um estudo sob o aspecto nutricional, MURAKAMI & SHIMA (2006) classificaram os indivíduos mais dominantes da colônia desta espécie como fêmeas hierarquicamente superiores e as demais como subordinadas típicas, onde a fêmea dominante reprodutiva possui uma alta longevidade na colônia provavelmente relacionada à ingestão de maior quantidade de alimento protéico. Esta fêmea dominante reprodutiva (= rainha), obtém a vantagem nutricional devido a sua maior permanência sob o ninho, evitando tarefas de alto custo energético e risco como o forrageamento e mantendo o controle social pela verificação constante das células e das fêmeas subordinadas (MURAKAMI, 2007). Murakami & Shima (2006; 2009; 2010) também demonstraram que a hierarquia social em *M. cassununga* é linear, onde a fêmea na 1ª posição

do ranking domina todas as outras na colônia. A fêmea na 2ª posição, por sua vez, com exceção da 1ª dominante, domina todas as outras, e assim por diante. No presente trabalho, o estudo da hierarquia de dominância aumentou o número amostral de colônias estudadas na espécie, tanto na subfase pré-macho quanto na subfase pós-macho, e fortaleceu nossos achados anteriores na espécie (Tabelas 3 a 24). Também foi possível confirmar que o comportamento agressivo predominante foi o ato de verificar o subordinado co-específico com as antenas (Comportamento 5, v. MATERIAIS E MÉTODOS), sugerindo a utilização dos hidrocarbonetos como uma forma de reconhecimento individual intraespecífico. Estas substâncias cuticulares também são consideradas sinais primários no sistema de reconhecimento de insetos sociais (SINGER, 1998; HOWARD & BLOMQUIST, 2005), os quais são capazes de perceber tais substâncias através do contato direto, por exemplo, através da "antenação" (LORENZI et al., 1997). E de acordo com Sledge et al. (2004), é necessário entender como determinados hidrocarbonetos são percebidos pelos receptores químicos das antenas dos insetos.

Comportamentos violentos entre dois ou mais indivíduos da hierarquia social, os quais são comuns no estabelecimento e manutenção da hierarquia social em espécies de *Polistes* (PARDI, 1948; RÖSELER, 1991), são menos frequentes nas colônias de *M. cassununga* presentes no Campus de Rio Claro (MURAKAMI, 2007; MURAKAMI & SHIMA, 2009a; MURAKAMI, et al., 2010). Ou seja, em *M. cassununga*, apesar das interações agressivas durante a fase inicial na pré-emergência serem mais intensas do que na pós-emergência (PREZOTO, et al., 2004), as disputas físicas entre as fêmeas pela dominância social e reprodutiva na colônia podem ser caracterizadas principalmente por um comportamento menos agressivo em relação a *Polistes*. As interações sociais entre os membros da colônia ocorrem predominantemente através do ato de tocar o outro com as antenas (principal meio de contato físico direto), mesmo quando ocorre o desaparecimento da fêmea dominante

(MURAKAMI & SHIMA, 2009a). Baseado no método de linearização (Id) (PREMNATH et al., 1991), a hierarquia linear foi determinada em cada uma das colônias (Tabelas 3 a 24), o que permitiu o agrupamento e a classificação de todos os indivíduos estudados conforme a hierarquia de dominância social, ou seja, em fêmeas da 1ª posição hierárquica (fêmeas α = as "rainhas" da colônia), fêmeas da 2ª posição hierárquica (fêmeas β), fêmeas da 3ª posição hierárquica (fêmeas γ), e demais fêmeas subordinadas (restante dos indivíduos). Isto permitiu a investigação da presença dos hidrocarbonetos cuticulares e da sua possível função em *M. cassununga*, principalmente sob o aspecto comportamental na hierarquia social através do contato direto com as antenas.

b) Aspectos comportamentais da divisão de trabalho em *Mischocyttarus cassununga*

Em grupos de insetos sociais onde as diferenças morfológicas são praticamentes inexistentes entre as castas rainha e operária, ou mesmo somente dentro da casta operária, o comportamento tem sido o parâmetro diferencial entre esses grupos de indivíduos da colônia. No presente trabalho, resultados similares puderam ser obtidos comparando as fêmeas mais dominantes e as fêmeas subordinadas da colônia através da correlação de postos de Spearman ($p < 0,05$). Na espécie estudada obtivemos uma correlação positiva entre a posição da fêmea na hierarquia de dominância e o seu perfil comportamental na organização social da colônia, onde as fêmeas mais dominantes são responsáveis pelo cuidado direto da prole, sendo relativamente as mais ativas sobre o ninho (frequência total de comportamentos realizados no ninho), inspecionando com maior frequência as células, e realizando uma aparente sinalização ou marcação das células através do ato de esfregar o gáster nas mesmas (Tabelas 25 a 29 e Tabelas 30 e 31). Além disso, obtivemos uma correlação negativa significativa em 2 colônias e uma correlação negativa não significantiva na maior parte das colônias (4 colônias), onde as fêmeas subordinadas são as forrageadoras típicas da colônia. Nas outras 4 colônias não houve

a mesma correlação negativa, e muito provavelmente isto se deve a existência de mais um grupo característico de fêmeas nas colônias desta espécie, ou seja, o grupo de fêmeas subordinadas, na realidade, é constituído por fêmeas forrageadoras típicas (as quais passam a maior parte do tempo fora do ninho executando tarefas extranidais) e por fêmeas mais subordinadas do ranking relativamente mais jovens na colônia com a pigmentação amarela da linha transversal do 3^{o} tergito (Tabelas 32 e 33).

Já na colônia N8 (pós-macho) a correlação foi positiva e significativa, entretanto, isto pode ter ocorrido devido à demanda da colônia por alimento no período das observações, o que levou as fêmeas hierarquicamente superiores a forragear. Segundo Costa-Filho (2011), comprovou-se em *M. cerberus styx* que a retirada de indivíduos subordinados em baixas posições do ranking hierárquico não afeta o número da atividade forrageadora/hora na colônia, pois as fêmeas de posições mais elevadas passam a executar tal atividade sem a necessidade de um rearranjo da hierarquia social. Por outro lado, quando as fêmeas de posições elevadas (hierarquicamente superiores) são retiradas, as fêmeas forrageadoras típicas assumem o posto hierárquico mais elevado e permanecem mais tempo no ninho, diminuindo drasticamente a frequência da atividade de forrageamento observada.

Fica evidente que, além das interações entre a fêmea poedeira e suas subordinadas na colônia, a interação de dominância também ocorre entre a geração de operárias e, certamente, influencia na realização do trabalho dentro da colônia, como já relatado na literatura para outras espécies de vespas eussociais basais (PARDI, 1948; JEANNE, 1972, LITTE, 1977; CHANDRASHEKARA & GADAGKAR, 1991; JEANNE, 1991; O'DONNELL, 1998a, b). Resultados semelhantes já foram demonstrados em *M. cassununga*, onde as fêmeas mais dominantes são as principais responsáveis por inspecionar as células, realizar a postura de ovos (produção da prole) (MURAKAMI, 2007) e vigiar a prole permanecendo mais tempo na frente do favo da colônia (MURAKAMI & SHIMA, 2010). Nesta espécie, a predominância

da permanência da fêmea dominante e reprodutiva na colônia deve-se à manipulação do seu controle social sobre todas as outras fêmeas e à própria manutenção do seu status como indivíduo reprodutor dominante. Por sua vez, as fêmeas mais subordinadas juntas são responsáveis pela maior parte da atividade de coleta do alimento (MURAKAMI, 2007). De acordo com Jeanne (1986) e Giannotti (1992), em espécie de vespas eussociais basais, a diferenciação entre as castas "rainha" e operária ocorre em um nível comportamental, similarmente ao encontrado em *M. cassununga*. Conforme Torres et al. (2009), em *P. canadensis canadensis*, os indivíduos mais dominantes se especializam em determinadas tarefas intranidais (controle social, verificação das células, iniciar células novas, esfregar gáster no ninho, oofagia e ovipositar), enquanto que os subordinados, em outras, relacionadas à manutenção da colônia (atividade de forrageamento, trofaláxis, aumentar as células, dar alarme).

De acordo com os resultados morfofisiológicos em *M. cassununga*, as diferenças entre as fêmeas no ranking social são evidentes (Tabelas 32 e 33), onde os indivíduos dominantes tendem a apresentar um estado fisiológico que justificam a sua dominância colonial (são fêmeas inseminadas, com ovário mais desenvolvido, maior quantidade de tecido de reserva, maior desenvolvimento da glândula de Van der Vecth e relativamente mais velhas) em comparação com as demais fêmeas. Conforme MURAKAMI et al. (2009b), diferenças na fisiologia entre as fêmeas da hierarquia social ocorrem, de forma que a fêmea mais dominante não é a única capaz de gerar uma prole 2n na colônia. Além disso, neste estudo também foi demonstrado que o número de fêmeas inseminadas aumenta de acordo com a ontogenia da colônia, sugerindo uma condição estratégica da espécie frente às dificuldades na natureza. Tais fêmeas se caracterizam por estarem inseminadas, com o ovário desenvolvido e com maior quantidade relativa de corpo gorduroso. Cabe salientar que a presença de mais de uma fêmea inseminada também ocorre em outras espécie do mesmo gênero presente na área de

estudo (OLIVEIRA, 2007; SILVA, 2008). No presente trabalho, o aumento do número de fêmeas reprodutivas conforme a ontogenia colonial não foi observado provavelmente devido ao estágio da subfase em que as colônias foram estudadas. No entanto, os resultados da morfofisiologia na espécie reforçam as nossas afirmações e conclusões sobre a forte relação da capacidade reprodutiva do indivíduo com o seu status social.

Portanto, baseado na literatura e nos resultados obtidos através deste estudos, classificou-se as fêmeas em categorias comportamentais, tais como, fêmeas hierarquicamente superiores (fêmeas dominantes reprodutivas + outras fêmeas inseminadas na colônia = potencialmente reprodutivas), fêmeas forrageadoras típicas e fêmeas subordinadas menos ativas da colônia (v. Tabelas 48, 50 e 51). Concomitantemente, agrupou-se as fêmeas conforme o seu estado fisiológico (v. Tabelas 63, 65 e 66), como já relatado (v. MATERIAIS E MÉTODOS). Todos os resultados obtidos na espécie até o momento certamente nos dão suporte para investigar a possível existência de um mecanismo de sinalização química baseado nos perfis cuticulares de acordo com o padrão comportamental das fêmeas.

Sabe-se que o estabelecimento de uma hierarquia estável resulta em uma vantagem para os indivíduos dominantes que obtêm o controle social e freqüentemente evitam atividades de risco ou elevado gasto de energia (MARKIEWICZ & O'DONNELL, 2001). Considerando este fato, autores afirmam que, nestes vespídeos, a posição social da fêmea depende freqüentemente e fortemente da sua fisiologia reprodutiva (PARDI, 1948; RÖSELER; RÖSELER & STRAMBI, 1985). Apesar dos esforços nessa área, o mecanismo que relaciona o comportamento dominante, a divisão de trabalho (polietismo) entre as operárias e a fisiologia reprodutiva ainda não está claro (O'DONNELL, 1998b ; BECHERS & FEWELL, 2001 e SLEDGE et al. 2004). Dessa forma, estudar este mecanismo do ponto de vista bioquímico, ou seja, explorá-lo por meio de um estudo dos perfis dos hidrocarbonetos cuticulares, pode no mínimo ajudar a compreendê-lo melhor. Os hidrocarbonetos cuticulares

têm sido utilizados como sinais da atividade ovariana em espécies de *Polistes* (SLEDGE et al. 2000; SLEDGE et al., 2004; DAPPORTO et al., 2005) e Stenogastrinae (TURILLAZZI et al., 2004).

c) Análise geral do perfil cuticular das fêmeas de *Mischocyttarus cassununga*

Conforme Howard (1993) e Howard & Blomquist (2005), os lipídios cuticulares são constituídos principalmente de alcanos lineares de cadeias longas, alcenos e mono-, di- e trimetil-alcanos. Na espécie de vespa eussocial basal *M. cassununga* foi possível encontrar uma enorme abundância de hidrocarbonetos alcanos (88 compostos) (Tabela 34). Dentre todos os compostos que puderam ser encontrados e identificados, os hidrocarbonetos alcanos ramificados (Figura 7), representados por metilalcanos (36,20%) e dimetilalcanos (32,75%) foram encontrados em maior abundância, seguido pelos alcanos lineares (14,65%). Resultado semelhante na ordem de abundância foi obtido por TANNURE-NASCIMENTO (2007) com *Polistes satan*, uma espécie eussocial basal neotropical (Porcentagem da quantidade de compostos: 39,28% de metilalcanos, 28,57% de dimetilalcanos e 21,42 de alcanos lineares). A literatura mostra que a diversidade nos compostos cuticulares está ligada à variação na proporção de metilalcanos e alcenos, ao invés de alcanos lineares (CLÉMENT & BAGNÈRES, 1998; SLEDGE et al., 2001). Dentro do gênero *Polistes*, algumas espécies apresentam uma predominância na quantidade relativa dos alcanos lineares quando comparada com os metilalcanos. Segundo Espelie et al. (1994), *P. fuscatus* possui 67,09% de alcanos lineares, enquanto que os metilalcanos apresentam-se em 13,71% da amostra de hidrocarbonetos. Em *P. metricus*, a quantidade relativa dos alcanos lineares é de 50% e de metilalcanos 33,3% do perfil cuticular (ESPELIE et al., 1990). Por outro lado, na maioria das espécies deste gênero os metilalcanos são predominantes, como similarmente obtido nos resultados em *M. cassununga*. *P. annularis*, de acordo com Espelie & Hermann (1990),

apresenta 25% de alcanos lineares e 55% de metilalcanos em seu perfil químico. Já em *P. exclamans*, os alcanos lineares representam de 31,81%, enquanto os metilalcanos de 36,36% do perfil cuticular (SINGER et al., 1992). Bonavita-Cougourdan et al. (1991), verificaram que os alcanos lineares representam 18,96% e os metilalcanos 43,10% dos hidrocarbonetos cuticulares de *P. dominulus*. Nesta mesma espécie, Sledge et al. (2001) também encontraram uma quantidade relativa de alcanos lineares em 19,67% e metilalcanos em 31,14%. Ainda nestas espécies de *Polistes*, os compostos alcenos representaram uma pequena fração do espectro cuticular total, e algumas vezes são ausentes. Os dimetilalcanos também apresentaram-se relativamente em baixa quantidade nestas espécies, com exceção da espécie *P. dominulus*, onde a quantidade relativa de dimetilalcanos foi a segunda maior, ou seja, 32,75% encontrado por Bonavita-Cougourdan et al. (1991) e 24,59% por Sledge et al. (2001).

Na subfamilia Stenogastrinae, também parece existir uma certa tendência nas proporções dos hidrocarbonetos, onde os alcanoslineares predominam em quantidade, seguido por compostos alcenos. Em *Parischnogaster striatula*, cujo espectro compreende substâncias de cadeias menores do que em *Polistes*, os alcanos lineares representam 40,9%, os alcenos 46,42% e 17,85 o restante dos compostos (alcadienos e ácidos) (ZANETTI et al., 2001). Segundo Turillazzi et al. (2004), a espécie *Eustenogaster fraterna* possui 58,82% de alcanos lineares, 35,29% de alcenos e um ácido (C20-OH), enquanto que *Parischnogaster vechti* possui 42,30% de alcanos lineares, 30,76% de alcenos, e 26,92% de metilalcanos. *Liostenogaster flavolineata*, por sua vez, mostra 33,33% de alcanosl lineares, 44,44% de alcenos, 11,11% de álcoois e apenas 3,7% de metilalcanos (CERVO et al., 2002).

Em *Ropalidia marginata*, talvez a espécie mais estudada deste gênero, 16,66% dos compostos cuticulares são alcanos lineares e 63,33% dimetilalcanos (BHADRA et al., 2010).

Na presente espécie em estudo, ainda podemos afirmar que os alcenos não puderam ser encontrados, entretanto, a quantidade relativa de dimetilalcanos é relativamente elevada

(32,75%), sendo o segundo tipo de composto cuticular mais encontrado (Figura 7). Talvez a elevada proporção de dimetilalcanos, tanto em quantidade quanto em qualidade, esteja relacionada à sua importância no reconhecimento individual em *M. cassununga*. Martin & Drijfhout (2009), através de um estudo comparativo dos hidrocarbonetos cuticulares de 78 espécies de formigas de 5 subfamilias, relatam que, em uma ordem decrescente de ocorrência, os hidrocarbonetos mais frequentes são: alcanos lineares > monometilalcanos > dimetilalcanos > alcenos > dienos >> trimetilalcanos >> metilalcenos > metilalcadienos > trienos > tetrametilalcanos. De acordo com estes autores, a ampla diversidade de dimetilalcanos pode ser indicá-los como excelentes compostos discriminatórios no reconhecimento inter- e intra-específico das espécies de formigas.

De acordo com Dani et al. (2001), a composição total dos hidrocarbornetos da cutícula comumente caracteriza a espécie e pode variar amplamente entre os grupos de insetos sociais. Esta variação ocorre desde um perfil altamente complexo com muitas dezenas de compostos até um perfil mais simples com poucas dezenas de hidrocarbonetos. Por exemplo, no gênero *Polistes*, cujo grupo de vespa eussocial basal é o mais estudado sob este aspecto, as espécies *Polistes biglumis bimaculatus* (LORENZI et al., 1997) e *P. dominulus* (DAPPORTO et al., 2004) apresentam respectivamente 63 e 65 compostos cuticulares, enquanto *P. metricus* (LAYTON et al., 1994) e *P. satan* (TANNURE-NASCIMENTO et al., 2007) apresentam 25 e 28 compostos cuticulares, respectivamente.

A enorme quantidade de hidrocarbonetos cuticulares (88 compostos) encontrada em *M. cassununga*, somado aos grupos dominantes de hidrocarbonetos alcanos presentes (alcanos lineares, metilalcanos e dimetilalcanos), nos sugere a existência de um mecanismo complexo de comunicação química através do perfil cuticular individual desta espécie. Muitos estudos comportamentais têm concentrado a atenção na habilidade dos insetos sociais de se reconhecerem através de mecanismos de seleção, castas e identificação de co-específicos

(LORENZI et al., 1996; SINGER, 1998; DANI et al., 2001; SLEDGE et al., 2001), e nas vespas eussociais basais, como *Polistes,* Stenogastrinae e *Ropalidia*, a utilização deste mecanismo baseado na quimiorecepção dos hidrocarbonetos cuticulares, os quais são encontrados em grande abundância na cutícula (SINGER & ESPELIE, 1992), tem sido comprovado em diversas espécies.

d) Análise do perfil cuticular das fêmeas nas colônias de *Mischocyttarus cassununga*

Com base na comparação dos perfis cuticulares entre as colônias de *Mischocyttarus cassununga*, as análises estatísticas (73,25% de correta alocação das fêmeas nas colônias) mostram que as fêmeas de uma mesma colônia (co-específicas) apresentam um perfil químico similar ou muito próximo (Figura 10). Isto, aliado às características intrínsecas da espécie, tais como a presença de uma hierarquia linear bastante estável durante a ontogenia colonial, e a ausência de agressões violentas entre os indivíduos (MURAKAMI, 2003; MURAKAMI & SHIMA, 2006, MURAKAMI, 2007; MURAKAMI & SHIMA, 2009a), sugere não só a existência de um sistema de reconhecimento intracolonial eficaz, mas também a forte presença de um mecanismo de reconhecimento entre co-específicos através da quimiorrecepção. No presente trabalho não foram realizadas manipulações experimentais para testar de fato a presença de um mecanismo de reconhecimento co-específico da colônia, no entanto, durante todo o período da coleta de dados comportamentais no campo, foi constatada a rejeição da colônia estudada por indivíduos não co-específicos desconhecidos em diversas ocasiões (observações pessoais). No entanto, quando as colônias N5 e N12 durante a subfase pós-macho se dividiram (N5 → N5a = N5 (natal) + N5b (derivada); N12 (natal) → Na (derivada) + Nb (derivada) + Nc (derivada)), foi observado que durante algum tempo as fêmeas co-específicas eram aceitas tanto na colônia natal quanto na colônia derivada. Infelizmente as colônias N5a e N5b foram coletadas para o estudo bioquímico, enquanto que

as colônias Na, Nb e Nc foram atacadas por parasitóides (observações pessoais). Adicionalmente, o ato de tocar um ao outro com as antenas é a forma de interação predominantemente utilizada na determinação da hierarquia, e com certeza nos dá mais suporte para esta nossa hipótese. Conforme Zanetti et al. (2001), em *Parischnogaster striatula* apresenta comumente este tipo de comportamento, o que também leva estes autores a sugerir que sinais químicos estão envolvidos no reconhecimento de co-específicos desta espécie de Stenogastrinae. Estes sinais químicos representados pelos hidrocarbonetos cuticulares comprovadamente apresentam uma composição espécie-específica e colônia-específica, onde as fêmeas de uma determinada colônia são capazes de reconhecer os seus co-específicos através do odor, como demonstrado em *Polistes annularis* (ESPELIE & HERMANN, 1990), em *P. metricus* (ESPELIE et al., 1990; LAYTON et al., 1994), em *P. dominulus* (BONAVITA-COURGOUDAN et al., 1991; PICKETT et al., 2000; LORENZI et al., 2004; SUMANA et al., 2005), em *P. fuscatus* (GAMBOA et al., 1996; PANEK et al., 2001), e em *P. biglumis bimaculatus* (LORENZI et al., 1997). Na familia Stenogastrinae, o reconhecimento individual por meio de um odor similar ou homogêneo da colônia também foi demonstrado em *Liostenogaster flavolineata* (CERVO et al., 1996; CERVO et al., 2002), em *L. vechti* (CERVO et al., 1996), *Parischnogaster jacobsoni* (CERVO et al., 1996) e em *Parischnogaster striatula* (ZANETTI et al., 2001).

De acordo com os estudos realizados até o momento, nas vespas eussociais basais, o mecanismo de reconhecimento de co-específicos através de determinados hidrocarbonetos depende principalmente da quantidade na concentração relativa de determinados compostos cuticulares em uma colônia. Nosso estudo mostra que o perfil cuticular das colônias em *M. cassununga* pode ser caracterizado pela especificidade na concentração relativa dos compostos heptacosano (C27), 3-metilheptacosano, 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 7, 15 e 7, 18-dimetilnonacosano, 13, 15-dimetilnonacosano, e 11, 16-dimetilhentriacontano (Tabelas

35 a 37). Em colônias distintas e aparentadas de *Polistes fuscatus*, os compostos 13 e 15-metilhentriacontano, 11, 15 e 13, 17-dimetilhentriacontano e 13 e 15 e 17-metiltritriacontano apresentaram propriedades postuladas referentes a feromônios de reconhecimento, tais como especificidade colonial, ausência de diferenças entre fundadoras e operárias, e herdabilidade do perfil cuticular da colônia natal (ESPELIE et al., 1994). Em um estudo similar com esta mesma espécie (*P. fuscatus*), Gamboa et al. (1996) verificaram que os compostos metilalcanos (13 e 15-metilhentriacontano, 13 e 15 e 17-metiltritriacontano e 11, 15-dimetilnonacosano) são relativamente mais colônia-específicos, enquanto os alcanos lineares (heneicosano (C21), hentriacontano (C31), triacontano (C30), tricosano (C23), tetracosano (C24) e hexacosano (C26)) são menos colônia-específicos.

Diversos estudos têm investigado o mecanismo de reconhecimento químico através do perfil cuticular nas vespas eussociais basais, principalmente estudando espécies do gênero *Polistes*. O intuito de determinar se toda a mistura de compostos cuticulares é importante na discriminação individual, ou se os indivíduos utilizam determinados compostos específicos para se reconhecerem não é simples, e tem gerado muita discussão (LORENZI et al., 2004). Dani et al. (2001), testaram o efeito da concentração de algumas substâncias cuticulares durante o processo de reconhecimento entre co-específicos de *Polistes dominulus,* e constataram que os alcanos lineares não causaram efeito algum na resposta de reconhecimento, ao contrário dos metilalcanos e alcenos. Neste estudo foi comprovado que a alteração do perfil cuticular das vespas de uma colônia, por meio de uma concentração distinta de metilalcanos ou alcenos, gera um conflito colonial onde os indivíduos com perfil alterado são atacados na colônia. Por outro lado, Lorenzi et al. (2004), estudando a mesma espécie (*P. dominulus*), verificaram que os hidrocarbonetos lineares são importantes no reconhecimento co-específico em indivíduos jovens, ou seja, a importância da concentração destas substâncias deve estar relacionada à ontogenia do perfil cuticular (conforme o

desenvolvimento do indivíduo a quantidade relativa de compostos lineares tende a diminuir enquanto a quantidade de alcanos ramificados tende a aumentar).

Para *M. cassununga*, a análise discriminante revelou que, em uma ordem decrescente, os compostos que mais contribuíram para caracterizar as diferenças entre os perfis coloniais (73,25% de correta alocação dos indivíduos dentro da sua colônia) foram o 13, 15-dimetilnonacosano, heptacosano (C27), 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 7, 15 e 7, 18-dimetilnonacosano, 3-metilheptacosano e 11, 16-dimetilhentriacontano (Figura 9). Adicionalmente, percebe-se que a maior parte destes compostos químicos (considerados potencialmente colônia-específicos) foi constituída por alcanos ramificados em todas essas análises em *M. cassununga*. Diferentemente, em *Polistes satan*, uma espécie de vespa eussocial neotropical basal que pode ser encontrada nas mesmas regiões que a espécie em estudo, Tannure-Nascimento et al. (2007), relatam que os compostos mais importantes na separação dos indivíduos de acordo com a sua colônia foram o octacosano (C28), heptacosano (C27), 11-metilhentriacontano e tritriacontano (C33), ou seja, surpreendentemente a predominância de compostos lineares. Resultado semelhante também foi obtido em um estudo mais recente na mesma espécie, onde os principais compostos decrescentemente foram o hentriacontano (C31), heptacosano (C27), 3-metilnonacosano, nonacosano (C29) e o pentacosano (C25) (TANNURE-NASCIMENTO et al., 2008).

Por sua vez, quando analisou-se o perfil químico das colônias considerando a amostra do respectivo pedúnculo do ninho, obtivemos 100% de correta alocação, tanto nas colônias que não se dividiram durante as subfases pré-macho ou pós-macho (Figura 14) quanto nas que se dividiram durante a subfase pós-macho (Figura 15). Nestes casos, os compostos químicos que mais contribuíram na separação significativa dos grupos em ambos os casos sem e com divisão colonial durante as observações (Tabelas 39 e 41), foram principalmente os compostos metilalcanos e dimetilalcanos. Em algumas espécies de *Polistes* foi demonstrado

que a composição química da superfície do ninho e do pedúnculo é similar ao perfil colonial, diferindo apenas nas concentrações relativas dos hidrocarbonetos (*P. annularis* por ESPELIE & HERMANN, 1990; *P. metricus* por ESPELIE et al., 1990).

Dentro deste contexto nossos dados sugerem que, para elucidar o postulado sobre os sinais químicos utilizados através do perfil cuticular colônia-específico em *M. cassununga*, seria necessário a aplicação de futuros trabalhos experimentais. Desse modo, através de bioensaios seria possível testar se as diferenças nas concentrações destes compostos realmente apresentam uma função colônia-específica, ou ainda, se o perfil químico do indivíduo na colônia depende da concentração de um composto específico ou de uma mistura entre os compostos presentes na espécie.

e) Análise do perfil cuticular das fêmeas de acordo com status social na ontogenia colonial em *Mischocyttarus cassununga*, considerando a hierarquia social, os aspectos comportamentais e os parâmetros morfofisiológicos

O processo de reconhecimento químico nos insetos sociais envolve a hipótese da capacidade de percepção das diferenças na composição química dos hidrocarbonetos epicuticulares entre os indivíduos. Diversos trabalhos nas vespas eussociais basais (principalmente *Polistes* e Stenogastrinae) têm mostrado e confirmado a importância dos hidrocarbonetos cuticulares no reconhecimento de co-específicos. Por outro lado, estudos também têm demonstrado diferenças no perfil cuticular entre as fêmeas na hierarquia social da colônia (BONAVITA-COUGOURDAN et al., 1991; LAYTON et al., 1994; SLEDGE et al., 2001, 2004; DANI et al, 2004; DAPPORTO et al., 2004, 2005, 2007), o que sugere que os hidrocarbonetos são importantes no reconhecimento entre as castas ou na sinalização de um status reprodutivo na colônia. Em *Mischocyttarus cassununga*, as análises estatística foram realizadas baseando-se em diversos aspectos e parâmetros relevantes dentro da organização

social da colônia nesta espécie. Tais aspectos levaram em consideração características intrínsecas como a estabilidade da hierarquia de dominância, a divisão de trabalho e os parâmetros morfofisiológicos (MURAKAMI, 2003, MURAKAMI & SHIMA, 2006; MURAKAMI, 2007; MURAKAMI & SHIMA, 2009a; MURAKAMI et a., 2009b; MURAKAMI & SHIMA, 2010;).

Nossos resultados sobre a comparação dos perfis químicos entre as fêmeas de diferentes posições hierárquicas (1as, 2as, 3as e demais fêmeas no ranking) revelam que os hidrocarbonetos cuticulares aparentemente não são bom sinalizadores para diferenciar estes grupos pelo seu perfil químico. Tanto na primeira comparação dos grupos (desconsiderando a divisão por subfases pré-macho e pós-macho) (Figura 16), quanto na segunda (considerando grupos distintos entre as duas subfases) (Figura 19), as porcentagens de correta alocação dos indivíduos foram relativamente baixa (respectivamente 63,95% e 45,35%). Este resultado, baseado na hierarquia de dominância, mostra que considerar somente a agressividade moderada no comportamento de dominância (tocar o outro com as antenas) pode gerar erros na interpretação dos dados agrupados. Embora a hierarquia social de *M. cassununga* seja altamente estável durante a ontogenia colonial (MURAKAMI & SHIMA, 2006, 2009a, 2010), onde os indivíduos mais dominantes são os mais "agressivos" numa escala linear e tendem a assumir a função reprodutiva, provavelmente outros fatores também devem estar relacionados aos hidrocarbonetos das fêmeas na espécie. Tais fatores provavelmente dizem respeito à fisiologia reprodutiva das fêmeas. De acordo com trabalhos realizados em *Polistes dominulus*, o perfil cuticular das fêmeas dominantes reprodutivas depende da estabilidade na hierarquia e está correlacionado com o desenvolvimento ovariano (SLEDGE et al., 2001; SLEDGE et al., 2004; DAPPORTO et al., 2004). Na espécie do presente estudo, foi comprovada a existência de mais de uma fêmea inseminada por colônia independente da subfase (pre-macho ou pós-macho) durante o desenvolvimento da colônia (MURAKAMI, 2003, MURAKAMI &

SHIMA, 2006; MURAKAMI, 2007; MURAKAMI et al., 2009b). Considerando que as diferenças nos perfis cuticulares são influenciadas pelo estado fisiológico, isto pode explicar a baixa diferenciação do perfil dos hidrocarbonetos entre os grupos de fêmeas separados pelas posições hierárquicas, neste caso. Dessa maneira, embora o termo dominância signifique tanto dominância social quanto reprodutiva, uma vez que, quando uma fundadora alcança a posição social de dominante concomitantemente torna-se a principal poedeira da colônia (PARDI, 1948; RÖSELER, 1991), a diferenciação do perfil cuticular dos indivíduos na colônia não deve ser explicado estritamente conforme as posições hierárquicas na colônia.

A divisão de trabalho é crucial para a organização da colônia nos insetos sociais (WILSON, 1971; NAUG & GADAGKAR, 1998). A organização social, por sua vez, apresenta um complexo sistema de comunicação química que permite a colônia organizar a divisão de tarefas e maximizar a sua produtividade (KATHER et al., 2011). No entanto, embora a divisão do trabalho seja essencial para a vida da colônia, segundo estes autores, o mecanismo no qual os insetos sociais distinguem os grupos de tarefas entre indivíduos morfologicamente idênticos é desconhecido. Considerando a nossa análise pelo agrupamento das fêmeas na divisão de tarefas, os nossos resultados revelaram que os grupos diferem em seu perfil cuticular (Figura 21) num total considerável de correta alocação (72,22%), o que indica a possível utilização do perfil químico no reconhecimento da função do indivíduo na colônia. Isto fortalece as nossas hipóteses anteriores sobre o número de fêmeas inseminadas por colôna, uma vez que o grupo de fêmeas dominantes (G1: mais dominantes = 1^{as} do ranking + outras fêmeas hierarquicamente superiores, ambas inseminadas e com ovário desenvolvido) se distingue perfeitamente das fêmeas forrageadoras (G2) e das subordinadas mais inativas (G3) (Tabela 49). Posteriormente, quando agrupou-se as fêmeas dentro dos grupos esperados e conforme as subfases pré-macho e pós-macho, os resultados revelaram que o percentual de correta alocação diminuiu muito (56,94%) (Figura 23), indicando que esta

divisão por subfases no agrupamento dos indivíduos não é a mais apropriada. É importante salientar que, embora a divisão de trabalho na colônia seja influenciada pela hierarquia de dominância e possa refletir o estado fisiológico, deve-se considerar a presença de uma certa flexibilidade comportamental nas vespas eussociais basais. Nestes vespídeos, todos os indivíduos são capazes de assumir qualquer papel comportamental, ou seja, dominante ou subordinado, de acordo com a situação social em que se encontra a colônia (GOBBI, 1977; LITTE, 1979, 1981). Dessa forma, apesar da relação existente entre a divisão de tarefas e o estado fisiológico da fêmea na hierarquia colonial, mudanças na estrutura social da colônia (ex: perda de alguns indivíduos) podem influenciar a organização social como um todo, de modo que os indivíduos tendem a se ajustar comportamentalmente em prol do desenvolvimento colonial. Costa-Filho et al. (2011) observaram e demonstraram experimentalmente, que a retirada de poucas fêmeas de elevadas e baixas posições hierárquicas afetam a frequência total da atividade de forrageamento na colônia, diminuindo essa atividade em maior grau no primeiro caso. Consequentemente, nestes casos, o agrupamento através dos padrões comportamentais pode não refletir com exatidão as características fisiológicas relacionadas com a divisão de trabalho das fêmeas na colônia, e isto também pode levar a interpretações equivocadas dos dados. No entanto, durante as observações de campo em *M. cassununga*, não houveram alterações visíveis deste nível. Conforme Sledge et al. (2001), em *Polistes dominulus*, as mudanças fisiológicas como o desenvolvimento ovariano, as quais resultam nas alterações do perfil cuticular das fêmeas operárias, ocorrem num período de dez (10) dias após a perturbação na hierarquia social. Desse modo, os nossos resultados indicam que as diferenças comportamentais podem potencialmente explicar as diferenças nos perfis químicos das fêmeas da espécie sem considerar a divisão da fase de pós-emergência em subfases.

Estudos sobre a real utilização dos hidrocarbonetos cuticulares como ferramentas químicas para sinalizar o status social e reprodutivo do indivíduo na colônia das vespas eussociais basais são mais complexos pela dificuldade em se controlar o estado fisiológico das fêmeas. A maioria das pesquisas ainda se limita a pressupostos e/ou postulados baseados nas diferenças encontradas entre os perfis químicos das fêmeas reprodutivas e não reprodutivas das espécies estudadas (*P. dominulus* por BONAVITA-COUGOURDAN et al. (1991), SLEDGE et al. (2001), DANI et al. (2004); DAPPORTO et al. (2004) e *P. metricus* por LAYTON et al. (1994)). Além disso, em *Polistes,* a maior parte das pesquisas visa a comparação dos perfis cuticulares sob um olhar bem mais bem definido entre os grupos da colônia (ex: reprodutivas x não reprodutivas e/ou fundadoras x co-fundadoras), ou seja, desconsidera a existência de grupos intermediários entre dois extremos, como considerado neste estudo para *M. cassununga*. Por exemplo, na espécie *Polistes dominulus*, segundo Dapporto et al. (2004) é sempre possível separar as fêmeas fundadoras alfas (α) das fêmeas co-fundadoras betas (β) pela comparação do perfil cuticular. Estes autores ainda sugerem que os indivíduos (α e β) usam as diferenças em seu perfil químico para adquirir informações sobre o status social do seu co-específico. Por outro lado, estudos mais recentes têm comprovado a existência de um mecanismo de reconhecimento baseado nas diferenças dos perfis químicos entre "rainhas" e operárias (*P. dominulus* por SLEDGE et al. (2004) e DAPPORTO et al. (2005) e *P. gallicus* por DAPPORTO et al. (2007)). Por esta razão, neste trabalho pretendeu-se analisar os parâmetros fisiológicos primeiramente separados e, ao memo tempo unindo-os como um todo, inclusive considerando o histórico comportamental dos indivíduos na colônia.

Em *M. cassununga*, o agrupamento conforme o conteúdo da espermateca das fêmeas, ou seja, a comparação dos perfis das fêmeas inseminadas e não inseminadas, indicou que os hidrocarbonetos apresentam uma forte relação com a capacidade reprodutiva do indivíduo na colônia (80% de correta alocação) (Tabela 54). Isto mostra que, acreditando no potencial da

influência do estado fisiológico sobre o perfil químico dos indivíduos na presente espécie, este parâmetro deve ser considerado primordial nas análises. Pesquisas têm demonstrado que as diferenças nos perfis cuticulares entre fêmeas fundadoras são mínimas durante as fundações poligínicas de *Polistes dominulus*, e passam a ser significativas somente num estágio mais avançado da ontogenia colonial (fase de pós-emergência) devido à regressão ovariana por parte das fundadoras subordinadas (SLEDGE et al., 2001; SLEDGE et al., 2004; DAPPORTO et al., 2005). No presente trabalho todas as colônias foram estudadas durante a fase de pós-emergência, ou seja, após o período inicial de estabelecimento da hierarquia da colônia. É importante salientar que a hierarquia social desta espécie permanece altamente estável mesmo quando os novos ninhos são fundados por uma associação de fêmeas (Pleometrose), uma vez que todas estas fêmeas são provenientes do mesmo ninho natal e se deslocam para fundar um novo nas proximidades do local. Este fato parece ser comum na região do estudo, onde a fundação haplometrótica da espécie é predominante (observações pessoais). Considerando este fato, espera-se que, mesmo em fundações pleometróticas, as diferenças nos perfis cuticulares é mais significativa mesmo neste estágio inicial.

Quando verificou-se os perfis cuticulares das fêmeas baseados no padrão de desenvolvimento do ovário para a espécie em estudo (Figura 26), foi obtido um total de correta alocação em 78,67%. Dentre os hidrocarbonetos analisados, numa ordem de significância, os compostos que mais contribuíram sugerindo que o estado fisiológico do ovário também deve estar relacionado ao perfil cuticular da fêmea foram o 3-metilnonacosano, 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 11, 15-dimetilhentriacontano, 3-metilheptacosano, 15, 16-dimetilhentriacontano, 11, 15-dimetilnonacosano, 5, 17-dimetilhentriacontano e o heptacosano (C27) (Figura 25). Considerando que os alcanos lineares e metil-ramificados de cadeia longa tendem a ser os principais compostos cuticulares pela separação das fêmeas α, β e demais subordinadas na espécie *Polistes dominulus*, de clima

temperado (SLEDGE et al., 2001; DAPPORTO et al., 2004), os resultados em *Mischocyttarus cassununga*, de região neotropical, sugerem que os metilalcanos e dimetilalcanos são predominantemente os compostos responsáveis pela separação das fêmeas na hierarquia social, conforme a sua capacidade reprodutiva. Em menor proporção os alcanos lineares também puderam apresentar uma importância significativa na análise. Por outro lado, Tannure-Nascimento et al. (2008) relatam que 4 compostos lineares (C31, C27, C29 e C25) e 1 metilalcano (3-MeC29) foram os principais responsáveis pela separação das fundadoras dominantes, fêmeas substitutas e outras subordinadas, e que o perfil químico das mesmas apresentaram uma relação com o estado reprodutivo na colônia da vespa eussocial basal e neotropical, *Polistes satan*. Neste mesmo trabalho estes autores também demonstraram que os sinais visuais presentes na região frontal da cabeça (pigmentação diferencial do clípeo) nesta espécie foram associados à dominância social na colônia. Embora a discussão sobre a real função das classes de hidrocarbonetos ainda seja consideravelmente recente, estudos têm demonstrado que os metilalcanos aparentemente são os principais feromônios de reconhecimento da capacidade reprodutiva no status social (DANI et al, 2001), enquanto que os alcanos lineares aparentemente são os principais responsáveis pelo reconhecimento de indivíduos jovens co-específicos da colônia (LORENZI et al., 2004). Oportunamente, isto nos leva a supor uma importância significativa da participação dos compostos lineares na sinalização do status social (capacidade reprodutiva e/ou dominância reprodutiva) durante o início da ontogenia colonial em espécies com comuns associações pleometróticas (mais de uma fêmea jovem fundadora). Conforme Lorenzi et al. (2004), em *Polistes dominulus*, durante as primeiras 72 horas após a emergência das fêmeas jovens, ocorrem mudanças nas proporções das três classes de hidrocarbonetos, onde a concentração dos alcanos lineares permanece relativamente constante enquanto dos alcenos diminui, ao passo que a concentração dos alcanos ramificados aumenta entre o segundo e terceiro dia. Resultado

semelhante foi obtido por Panek et al. (2001) em *P. fuscatus*, cujas fêmeas jovens com idade inferior a 48 hs não são discriminadas quando introduzidas em uma outra colônia. Portanto, supõe-se que, nestas associações formadas por fêmeas jovens reprodutivas durante a fase de pré-emergência, a proporção relativa dos alcanos linerares provavelmente ainda pode ser importante na distinção entre as fêmeas fundadoras. Possivelmente este seja o caso de *P. satan*, diferentemente de *M. cassununga*, a qual a fundação haplometrótica é o tipo predominante no local onde o nosso estudo foi realizado. Segundo Sledge et al. (2004), em fundações associativas durante a fase de pré-emergência de *P. dominulus*, as fêmeas dominantes apresentam uma maior proporção de alcanos lineares (semelhante à *P. satan*) como o dotriacontano (C32) e tritriacontano (C33), assim como uma menor proporção de 13 e 11-metilalcanos (alcano ramificado) quando comparadas com as fêmeas subordinadas. Já em fundações solitárias, as fêmeas apresentam uma maior proporção de metilalcanos e dimetilalcanos do que as outras fêmeas em sub-estágios mais avançados, semelhante à *M. cassununga*. Cabe salientar que a idade (relativa ou em dias) não foi o foco dos estudos feitos nestas espécies do gênero *Polistes*, assim como o estudo dos hidrocarbonetos durante a fase pré-emergência não foi o foco em *M. cassununga.*

Adicionalmente, comparando com a proporção relativa dos compostos responsáveis por separar as fêmeas reprodutivas (inseminadas) das não reprodutivas (não inseminadas), cujos compostos foram o 3-metilnonacosano, heptacosano (C27), 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano e 15, 16-dimetilhentriacontano (Figura 24), percebe-se os compostos que provavelmente sinalizam o status reprodutivo como um todo (inseminação + bom desenvolvimento do ovário) são praticamente os mesmos. Quando comparou-se as diferenças quantitativas (concentração relativa dos compostos) considerando isoladamente o desenvolvimento ovariano, verificou-se que estas são mais evidentes quando compara-se as fêmeas de ovários mais bem desenvolvidos com as de ovários pouco desenvolvidos (G1 x G5, G2 x G5 e G3 x

G5) (Tabela 56). Aparentemente, considerando os valores da concentração pela média e mediana, o composto 3-metilnonacosano é encontrado em maiores proporções nos grupos com ovários mais desenvolvidos, enquanto o heptacosano (C27) em proporções relativas menores dos que nos outros grupos (Figura 25). Outras diferenças são mais sutis, mas foram significativas pela análise canônica. Nosso estudo comparou os perfis das fêmeas levando-se em consideração todos os graus de desenvolvimento ovariano (5 padrões: G1= A, G2= B, G3= C, G4= D e G5= E), e os resultados obtidos sugerem a potencialidade dos hidrocarbonetos na sinalização do status social e reprodutivo para a espécie estudada. Embora a diferença entre os perfis químicos não seja clara entre todos os padrões de ovários, os nossos resultados podem ser justificados e aceitos com base nas próprias características conhecidas da espécie (MURAKAMI & SHIMA, 2006; MURAKAMI et al., 2009). O fato de haver fêmeas inseminadas com mais de um padrão desenvolvido de ovário (A, B e C) convivendo em uma mesma colônia (Tabelas 32 e 33), provavelmente diminui as diferenças entre os perfis G1, G2 e G3. Estas fêmeas em algum momento podem iniciar uma nova colônia já que são capazes de gerar uma prole 2n. Desta maneira, fica evidente a forte possibilidade da utilização dos perfis químicos como sinalizadores do estado fisológico na organização social das fêmeas. Embora a coexistência de mais de uma fêmea reprodutiva em uma mesma colônia ainda seja um mistério em *M. cassununga* (e demais espécies do gênero também presentes na proximidade da área do trabalho, tais como *M. cerberus styx* e *M. montei*), este estudo bioquímico ajuda a explicar e entender melhor este aspecto biológico pelo fato das fêmeas com ovário desenvolvido aparentemente apresentarem um perfil químico similar. Talvez as fêmeas dominantes reprodutivas (“rainhas”) e as fêmeas potencialmente reprodutoras estejam compartilhando uma assinatura cuticular semelhante, e isto pode ajudar a fêmea mais dominante a identificar e reforçar o seu controle sobre as fêmeas que ameaçam o seu status social. Por outro lado, permanecer aceita no ninho aumenta as chances da fêmea

potencialmente reprodutora eventualmente passar os seus genes adiante por um descuido ou mesmo desaparecimento da “rainha”. Entretanto, somente através de estudos experimentais futuros poderemos confirmar se tais diferenças nos perfis cuticulares, principalmente das mais dominantes em relação às subordinadas, estão realmente relacionadas com a sinalização química das substâncias encontradas no presente trabalho.

As pesquisas que investigam a sinalização do estado reprodutivo, por meio do perfil químico, entre os indivíduos da colônia de outras espécies têm mostrado e confirmado a importância dos hidrocarbonetos cuticulares. Sledge et al. (2001) relataram que, em *P. dominulus*, os hidrocarbonetos cuticulares são usados como sinais de atividade ovariana da fêmeas reprodutivas. Conforme estes autores, as novas fêmeas substitutas da colônia adquiriram um perfil cuticular semelhante ao das fêmeas alfas dominantes após a remoção desta últimas durante a fase de pós-emergência (maior proporção dos compostos 9-$C_{29:1}$, 9-$C_{31:1}$, n-$C_{33:2}$, n-$C_{35:2}$). Resultado similar a respeito da relação entre o perfil químico e o estado reprodutivo foi obtido por Dapporto et al. (2005), onde algumas fêmeas operárias de *P. dominulus* desenvolveram seus ovários e apresentaram perfis cuticulares parecidos com as das dominantes removidas anteriormente da colônia. Os compostos responsáveis por discriminar as fêmeas com ovários desenvolvidos (fundadoras retiradas e operárias que se assemelharam pelo perfil cuticular) das operárias subordinadas sem desenvolvimento ovariano foram o nonacoseno ($C_{29:1}$), heptacosano (C27), octacosano (C28), uma mistura central de monometilalcanos do nonacosano (C29) e dois dimetilalcanos (5, y-dimetilC29 e 7, y-dimetilC31). Sledge et al. (2004) comprovaram que estas substâncias cuticulares são importantes na diferenciação reprodutiva das fêmeas nesta mesma espécie. Neste estudo, os autores encontraram uma forte correlação positiva do perfil cuticular com o desenvolvimento ovariano em colônias poligínicas, e também que a variação no tamanho da corpora allata está associada com as variações na proporção dos hidrocarbonetos. Nestas fundações associativas,

as fêmeas dominantes apresentaram maior quantidade dos compostos dotriacontano (C32) e tritriacontano (C33) e menor quantidade de 11 e 13-metilpentacosano, enquanto que as subordinadas apresentaram maior porcentagem de dimetilpentacosanos (C25).

Estudando espécies de Stenogastrinae, Turillazzi et al. (2004) constataram que em *Liostenogaster flavolineata* e *L. vechti* o estado reprodutivo das fêmeas, baseado no desenvolvimento ovariano, pode ser sinalizado através dos perfis químicos. Nestas espécies o percentual de correta alocação foi de 97,4% e 93%, respectivamente. Nas espécies *Eustenogaster fraterna* e *Parischnogaster striatula* os resultados não confirmaram a utilização de hidrocarbonetos na sinalização do status reprodutivo.

Trabalhos realizados sobre a mistura dos hidrocarbonetos presentes na cutícula e das secreções da glândula de Dufour têm mostrado que a composição dos compostos cuticulares é similar em ambos (ESPELIE & HERMANN, 1990; KEEGANS et al., 1993; DANI et al., 1996; SLEDGE et al., 2000). Por exemplo, Bhadra et al. (2010) revelaram evidências da comunicação química entre "rainhas" e operárias de *Ropalidia marginata*. Através da análise discriminante, os autores demonstraram que é possível distinguir as "rainhas" e operárias da colônia baseando-se na composição química da glândula de Dufour. As "rainhas" desta espécie apresentam particularidades dentre as espécies eussociais basais, cujos indivíduos dominantes não são os mais agressivos da colônia (GADAGKAR, 1991), ou seja, o controle da fêmea reprodutiva sobre as operárias provavelmente ocorre através de feromônios. Neste caso, os hidrocarbonetos seriam os candidatos em potencial. Por outro lado, apesar da função conhecida do órgão de Van der Vecht (VdV), atuando como o grande responsável no sistema de defesa da colônia contra formigas (VECHT, 1968; TURILAZZI, 1979; POST e JEANNE, 1980; JEANNE et al., 1983), estudos sobre a capacidade das vespas sociais em realmente perceber e distinguir os sinais dessas secreções glandulares são escassos (DAPPORTO et al. (2007). Este órgão é o grande responsável pela produção das secreções repelentes que são

depositadas sobre o ninho durante o ato de esfregar o gáster. Analisando comparativamente os perfis cuticulares das fêmeas com o grau de desenvolvimento da glândula de Van der Vecht em *M. cassununga* (Figura 30), verificou-se que os perfis químicos das fêmeas apresentam certa similaridade conforme o desenvolvimento deste órgão de secreção (80% de correta alocação dos indivíduos). Desta maneira, podemos supor que além da função primordial na produção de substâncias repelentes contra inimigos naturais, existe a possibilidade deste órgão atuar como um indicativo do status social do indivíduo dominante na colônia. E os nossos resultados morfofisiológicos e comportamentais ajudam nesta suposição, uma vez que a fêmea mais dominante é a que apresenta a glândula relativamente mais desenvolvida na colônia e esfrega o gáster com maior frequência nas diversas partes do ninho e no pedúnculo (Tabelas 25 a 29). Além disso, este comportamento constante nos leva a sugerir que, além da probabilidade de sinalizar a dominância na colônia, as substâncias secretadas e espalhadas na colônia podem estar sendo usadas para marcação individual da própria prole. Os resultados dos hidrocarbonetos presentes no pedúnculo do ninho e que puderam ser detectados e identificados também reforçam esta nossa suposição, uma vez que, a proporção destas amostras, no mínimo, mostram que existe uma especificidade química destes fragmentos com a colônia dentro da espécie estudada. No entanto, testes experimentais são necessários para comprovar esta hipótese. Estudos mais recentes em *Polistes* têm apontado para a importância do órgão de Van der Vecht em termos de sinalização de co-específicos e de dominância na colônia. Em *P. gallicus,* segundo Dapporto et al. (2007), além da presença da "rainha" na colônia, é necessária a frequência regular do comportamento de esfregar o gáster no ninho da fêmea dominante para inibir o desenvolvimento ovariano das operárias. Neste trabalho, os autores mostraram experimentalmente que as operárias discriminaram entre a secreção da glândula da "rainha" e das operárias, tanto de uma mesma colônia quanto de uma colônia desconhecida. Dani et al. (2003) encontraram que a composição da secreção do órgão de Van

der Vecht é composta por uma mistura de hidrocarbonetos a qual é similar à composição encontrada no perfil cuticular da fêmea de *P. dominulus*. Embora tenhamos tido fortes indícios da relação do desenvolvimento da glândula de Van der Vecht com o perfil químico exibido pelas fêmeas na colônia, sugerimos que estudos mais detalhados devem ser realizados em *M. cassununga* a fim de verificar e comparar a composição química da cutícula e com secreções deste órgão tão utilizado pelas fêmeas hierarquicamente superiores, especialmente as dominantes reprodutivas.

O corpo gorduroso (CG), por sua vez, considerado o principal tecido de reserva de nutrientes e de substâncias energéticas, tem ajudado no entendimento sobre a distinção entre as castas rainha e operária (PAES DE OLIVEIRA, 2005). Wheeler (1994) relata que a diferença na realização da tarefa entre indivíduos de uma colônia pode determinar a variação da fisiologia nutricional (corpo gorduroso= precursor do desenvolvimento do oócito) e do desenvolvimento ovariano. Dessa forma, num contexto social, a ovogênese pode ser influenciada por vários fatores importantes para sua regulação tais como: nutrição, atividade forrageira, acasalamento, clima e interações com outros indivíduos da mesma espécie (WHEELER, 1996). Analisando os perfis químicos das fêmeas com base no critério da quantidade relativa de corpo gorduroso, nossos resultados revelam que é possível distinguir os grupos de fêmeas (Figura 32) pela proporção relativa dos hidrocarbonetos (76% de correta alocação dos indivíduos). É importante salientar que este resultado condiz com a análise dos perfis cuticulares através do agrupamento de fêmeas com padrões comportamentais semelhantes (72,22% de correta alocação). Isto indica que, provavelmente, se considerarmos que a quantidade relativa deste tecido de reserva depende da especialização da tarefa do indivíduo (mesmo que temporária ou não muito bem definida), indiretamente este parâmetro fisiológico também pode sinalizar o seu status social na colônia. Conforme Markiewicz & O'donnell (2001), o estabelecimento desta hierarquia resulta em uma vantagem para os

indivíduos dominantes os quais obtêm o controle social afetando a divisão de trabalho dentro do grupo, assim como freqüentemente evitam atividades de risco ou elevado gasto de energia comportamental. Nota-se também que apesar de ambas as análises terem tido o intuito de comparar grupos semelhantes de fêmeas, os hidrocarbonetos dominantes responsáveis pela diferenciação dos grupos nos dois casos não foi a mesma (Tabelas 48 e 61). No entanto, isto pode ser explicado com base na flexibilidade comportamental das fêmeas de acordo com a situação social em que se encontra a colônia (RICHARDS, 1971, GOBBI, 1977; LITTE, 1979, 1981). Por esta razão, talvez os grupos comparados não tenham sido tão homogêneos, por exemplo, os grupos G1s de ambas análises (divisão de tarefas e corpo gorduroso) provavelmente não foram constituídos exatamente pelos mesmos indivíduos ou pelo menos pela maioria. Ainda, embora esteja clara que os hidrocarbonetos cuticulares podem diferenciar os indivíduos da colônia de acordo com o padrão comportamental (discutido anteriormente), deve-se considerar os parâmetros fisiológicos como fundamentais nesse tipo de análise, ou pelo menos atentar para este fato, como feito em *M. cassununga*.

Pesquisas sobre o efeito da idade no perfil cuticular do indivíduo têm apresentado aspectos importantes no reconhecimento de co-específicos nas vespas eussociais basais. Sabe-se que a exposição do ninho é importante no apredizado de um odor colônia-específico dos hidrocarbonetos nas fêmeas jovens recém-emergidas, fato relatado em operárias de *P. fuscatus* (PFENNING et al., 1983; GAMBOA et al., 1986) e de *Polistes metricus* (SINGER & ESPELIE, 1992; 1997). Como já relatado, os hidrocarbonetos têm sido encontrado na superfície dos ninhos de vespas eussociais basais, e estes são os mesmos compostos presentes na cutícula destas espécies (*P. annularis* por ESPELIE & HERMANN, 1990; *P. metricus* ESPELIE et al., 1990). Foi verificado por Bonavita-Cougourdan et al. (1991), que as fêmeas fundadoras da espécie *Polistes dominulus* diferem das suas filhas (descendentes) na proporção relativa de alguns compostos alcanos (hentriacontano = C31, tritriacontano = C33) e

metilalcanos (13 e 15 e 17-metiltritriacontano, 7-metiltritriacontano, 14 e 16-tetratriacontano, 13 e 17-pentatriacontano). Estes compostos foram encontrado em grande abundância nas fundadoras dominantes. Neste trabalho em *P. dominulus*, também foi possível discriminar alguns descendentes de diferentes fundadoras através da comparação dos perfis químicos. Panek et al. (2001) mostrou que as fêmeas jovens recém-emergidas de *Polistes fuscatus*, tanto sendo co-específicas quanto não sendo, são discriminadas pelas vespa maturas após uma período de 72 hs. Ainda nesta espécie basal, as vespas maturas são mais tolerantes aos co-específicos, os quais adquirem o odor da colônia de 2 a 3 dias de idade. Em *P. dominulus*, foi demonstrado que a quantidade de hidrocarbonetos do perfil das fêmeas aumenta 72 hs após a sua emergência, onde os alcanos lineares aumentam vagarosamente e os alcanos ramificados rapidamente (LORENZI et al., 2004). Coincidentemente, em *M. cassununga*, a análise canônica dos perfis cuticulares dos diferentes grupos de fêmeas revelou uma diferença significativa apenas entre as fêmeas mais velhas e as mais novas, e principalmente na quantidade relativa dos alcanos ramificados 7, 19 e 7, 16-dimetilhentriacontano e 7-metilnonacosano (Figura 27). Em nosso estudo, indivíduos de mesma idade relativa foram agrupados de colônias diferentes. O resultado apontou um total de 60% de correta alocação dos indivíduos, o que nos leva a supor numa fraca relação do perfil cuticular com a idade relativa (Figura 28). No entanto, esses dados sugerem que, através de um estudo baseado na idade real (em dias) das fêmeas, provavelmente seja possível obter resultados mais explicativos e confiáveis sobre as possíveis diferenças no perfil químico individual da espécie.

Por fim, quando consideramos todos os parâmetros morfofisiológicos juntos e analisamos os perfis cuticulares agrupando as fêmeas (Figura 34), os resultados em *M. cassununga* mostraram que, as diferenças entre os perfis são mais significativas quando compara-se os grupos G4 e G5 com os demais (G1, G2 e G3) em 77,78% de correta alocação. Provavelmente, grande parte destes resultados são provenientes principalmente da influência

do conteúdo da espermateca (80% de correta alocação) e do desenvolvimento ovariano (78,67% de correta alocação) no perfil cuticular dos indivíduos, e secundariamente dos fatores como quantidade de corpo gorduroso (76%) e desenvolvimento da glândula de Van der Vecht (80%). Quando comparamos estes mesmos grupos levando em conta as duas subfases (pré-macho e pós-macho), o percentual de correta alocação foi de (73,61%), ou seja, próximo da primeira comparação. Obervando a proporção dos compostos cuticulares responsáveis pela separação dos grupos nos dois casos, nota-se que a maioria dos compostos é a mesma (Tabelas 63, 65 e 66). Além disso, com a análise canônica verifica-se que os indivíduos reprodutivos e potencialmente reprodutivos continuaram alocados próximos uns dos outros independentemente das subfases (Figura 36). Isto também mostra que, apesar da fisiologia estar indicando diferenças no perfil químico entre as fêmeas da colônia, estas diferenças não estão relacionadas à subfase durante a ontogenia colonial. O fato da maior variação das proporções das concentrações cuticulares no grupo dominante da subfase pós-macho provavelmente deve-se à situação social que se encontra a colônia, ou seja, o menor comprometimento (menor permanência) com esta colônia natal em contraste com a provável procura de locais de nidificação próprios pode talvez estar influenciando no perfil químico dessas futuras fundadoras. De acordo com Dapporto et al. (2004), em *Polistes dominulus,* as diferenças químicas relacionadas à posição no ranking, as quais podem estar sinalizando a fertilidade (inseminação da espermateca), provavelmente são causadas pelas características fisiológicas e comportamentais. Ainda em *P. dominulus*, conforme o estudo de Dapporto et al. (2005), o perfil cuticular das fundadoras é correlacionado com o grau de desenvolvimento ovariano de cada indivíduo. Porém, além da atividade ovariana, estes autores ainda apontam para a influencia de outros fatores sobre o perfil químico das operárias, uma vez que, após a remoção das fundadoras dominantes, tanto as operárias que desenvolveram o ovário quanto as que não desenvolveram acabaram tendo o seu perfil químico modificado. Dessa maneira, com

base neste estudo, os autores afirmam que as proporções dos hidrocarbonetos nas fêmeas operárias provavelmente devem estar relacionadas aos fatores fisiológicos e ao contexto social da colônia.

As análises dos perfis químicos em *Mischocyttarus cassununga* considerando cada parâmetro morfofisiológico isoladamente (conteúdo da espermateca, padrão de desenvolvimento ovariano, grau de desenvolvimento da glândula de Van der Vecht e quantidade relativa de corpo gorduroso) mostraram que existe um forte indício de relação entre o estado fisiológico e o perfil cuticular das fêmeas na colônia. Talvez estes parâmetros isoladamente estejam ajudando a entender melhor as diferenças e/ou semelhanças dos hidrocarbonetos presentes na espécie, porém, a forma de análise em que o estado fisiológico do indivíduo mais se aproxima da realidade provavelmente inclui a união de todos os fatores pertinentes à própria espécie, como realizado com *M. cassununga*. Sendo assim, este trabalho mostra a ocorrência de diferenças entre os perfis cuticulares das fêmeas mais dominates e subordinadas típicas conforme o status fisiológico, principalmente por influência do desenvolvimento ovariano aliado à inseminação da espermateca na espécie, e fornece fortes indícios de que isto esteja relacionado à um mecanismo de reconhecimento químico dentro da organização social. Trata-se do primeiro estudo bioquímico realizado em uma espécie do gênero (*Mischocyttarus*) sob o aspecto evolutivo do comportamento social nos insetos, e portanto, estudá-lo sob a perspectiva dos hidrocarbonetos claramente enriquece o conhecimento na área. Entretanto, novamente sugere-se que estudos experimentais por meio de bioensaios são necessários para comprovar se estes sinais químicos estão realmente sendo utilizados pelos indivíduos para sinalizar o seu status social dentro da colônia.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

a) *Mischocyttarus cassununga* é uma vespa eussocial basal neotropical que apresenta uma hierarquia linear muito estável durante a ontogenia colonial. Esta hierarquia social é estabelecida entre as fêmeas da colônia principalmente através do comportamento de verificar o co-específico com as antenas. Tal comportamento de dominância pode ser considerado não violento, e traz indícios da importância e utilização da comunicação química por meio dos hidrocarbonetos na espécie.

b) Apesar da elevada estabilidade da hierarquia social na espécie, a qual resulta numa certa inflexibilidade das posições das fêmeas no ranking hierárquico, não existe uma forte relação direta das posições do ranking de dominância com a sinalização química por meio dos hidrocarbonetos. O fato dos hidrocarbonetos cuticulares estarem bastante relacionados com a fisiologia do indivíduo justifica a baixa probabilidade da existência deste nível de relação, uma vez que na espécie estudada, a presença de mais de uma fêmea inseminada na colônia é extremamente comum.

c) O estudo comportamental da divisão de tarefas através da correlação de Postos de Spearman ($p < 0,05$) mostra que existe uma diferenciação do padrão comportamental dos indivíduos baseado na hierarquia de dominância da colônia, onde as fêmeas mais dominantes (fêmeas hierarquicamente superiores) permanecem mais tempo no ninho executando grande parte das tarefas intranidais, enquanto uma parte das subordinadas se encarrega da atividade de forrageamento (forrageadoras típicas) e a outra parte permanece relativamente mais inativa sobre o ninho (fêmeas jovens).

d) A investigação sobre os hidrocarbonetos cuticulares em *M. cassununga* revelou uma enorme quantidade de substâncias que puderam ser encontradas (88 compostos) na população estudada, cuja porcentagem relativa foi respectivamente de 36,20% (42) metilcalcanos, 32,75% (38) dimetilalcanos, 14,65% (17) alcanos lineares, 12,92% (15) etilalcanos e 3,48% (4) de compostos que não puderam ser identificados. Estes compostos não voláteis de cadeia longa variam de 16 a 36 átomos de carbono. Nenhum composto insaturado com dupla ligação (alceno), o qual é comumente encontrado em outras espécies eussociais basais, pode ser encontrado nestas análises.

e) A maior quantidade relativa de compostos ramificados (metilalcanos e dimetilalcanos) sugere a presença de um sistema complexo de comunicação química presente. Dentre os compostos apontados como responsáveis pela separação das fêmeas conforme o seu perfil cuticular, estes dois tipos de alcanos foram os dominantes, seguidos pelos alcanos lineares. Nenhum etilalcano apresentou uma importância significativa dentro da comunicação química nesta população de vespas eussociais basais.

f) Os resultados comparativos dos hidrocarbonetos, nas diversas análises realizadas entre os grupos, mostraram que as diferenças entre os perfis cuticulares foi devido às proporções relativas (concentrações relativas) de determinados compostos, uma vez que nenhum compostos exclusivo para alguma fêmea foi encontrado neste estudo.

g) As análises químicas mostraram diferenças entre os perfis químicos das colônias na espécie estudada, indicando que determinados hidrocarbonetos presentes na cutícula são colônia-específicos. Estes compostos foram o heptacosano (C27), 3-metilheptacosano, 9 e 11 e 13 e 15-metilnonacosano, 7, 15 e 7, 18-dimetilnonacosano, 13, 15-dimetilnonacosano, e o 11, 16-dimetilhentriacontano.

h) Adicionalmente, as análises químicas das amostras dos pedúnculos do ninho também revelaram a existência de uma especificidade destes fragmentos com o perfil cuticular da colônia, independente da subfase em que ela se encontra desenvolvida.

i) Comparando os perfis químicos das fêmeas de acordo com o padrão comportamental, nossos dados obtidos com a análise estatística mostraram que existe um mecanismo de sinalização química dentro da organização social na espécie, a qual deve estar relacionada à divisão de tarefas na colônia. Tal resultado provavelmente deve-se à relação da divisão de trabalho com o estado fisiológico da fêmea.

j) Investigando o papel da comunicação química, como um meio de sinalizar o estado reprodutivo das fêmeas, na espécie deste estudo, pode-se constatar que analisar os parâmetros fisiológicos isoladamente falicita a interpretação das diferenças nos perfis cuticulares existentes dentro da organização social da colônia, e ao mesmo tempo, possibilita o entendimento de quais fatores podem estar influenciando ou não na função dos hidrocarbonetos. No presente trabalho puderam ser encontradas diferenças significativas nos perfis cuticulares quando comparamos os parâmetros como inseminação, desenvolvimento ovariano, corpo gorduroso, desenvolvimento da glândula de Van der Vecht, mas não quando comparamos as fêmeas pela idade relativa;

k) Dentre os parâmetros analisados, o conteúdo da espermateca (inseminada ou não inseminada) e o desenvolvimento ovariano, sem dúvida, estão mais relacionados à comunicação química como forma de sinalizar o status social e reprodutivo da fêmea na colônia de *Mischocyttarus cassununga*;

l) Considerando a influência conjunta de todos os parâmetros fisiológicos no perfil químico das fêmeas, nosso estudo indicou que os hidrocarbonetos como uma forma de sinalizar o status social dentro da colônia podem estar relacionado à ação conjunta de todos os aspectos fisiológicos, onde um ou mais fatores (ex: desenvolvimento ovariano e inseminação) devem estar primariamente relacionados, e outros (ex: corpo gorduroso e desenvolvimento da glândula de Van der Vecht) secundariamente;

m) Apesar dos vários indícios da presença de um mecanismo de sinalização química por meio dos hidrocarbonetos cuticulares, estudos envolvendo bioensaios são necessários para esclarecer e comprovar definitivamente a utilização destas substâncias na comunicação química desta espécie de vespa eussocial basal. Desta maneira será possível entender como e quais dos hidrocarbonetos presentes na cutícula destes insetos estão realmente sendo utilizados neste processo. Será que este mecanismo de sinalização colônia-específico e do status reprodutivo envolve somente a proporção relativa de determinados compostos que o presente estudo mostra e indica? Ou a percepção na comunicação química seria devido a uma mistura complexa resultante da combinação de várias destas substâncias atuando ao mesmo tempo? Quais fatores seriam realmente mais importantes neste processo de quimiorrecepção? Apenas a concentração relativa, a sua mera presença ou ambos resultam em uma resposta bioquímica específica e com significado biológico para a espécie? E quanto aos outros compostos, (como proteínas já relatadas na literatura) que podem estar presentes na cutícula dos insetos? Qual a sua influência dentro deste contexto? Portanto, frente à estes diversos questionamentos, sem dúvida, deve-se dar continuidade ao estudo, assim como ao início da investigação bioquímica deste grupo significante de vespas eussociais basais de região neotropical.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AITCHISON, J. The statistical analysis of compositional data. London: Chapman & Hall, 1986.

- ARAÚJO, C. Z. D. Bionomia e comportamento social comparado de *Mischocyttarus drewseni* de SAUSSURE 1857, nas regiões subtropical (Curitiba, PR) e tropical (Belém, PA), do Brasil (Hymenoptera, Vespidae). 1980. 110 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1980.

- ARNOLD, G., QUENET, B., CORNUET, J. –M., MASSON, C., DESCHEPPER, B., ESTOUP, A. e GASQUIL, P. Kin recognition in honeybees. *Nature*, v. 379, p. 498. 1996.

- BECHERS, S. N. e FEWELL, J. H. Models of division of labor in social insects. *An. Rev. Entomol*., Stanford, v. 46, p. 413-440. 2001.

- BHADRA, A., MITRA, A., DESHPANDE, S. A., CHADRASEKHAR, K., NAIK, D. G., HEFETZ, A. e GADAGKAR, R. Regulation of reproduction in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata*: on the trail of queen pheromones. *J. Chem. Ecol.*, v. 36, p. 424-431.2010.

- BONAVITA-COUGOURDAN, A., THERAULAZ, G., BAGNÈRES, A. –G., ROUX, M., PRATTE, M., PROVOST, E. e CLÉMENT, J. –L. Cuticular hydrocarbons, social organization and ovarian development in a polistine wasp: *Polistes dominulus* Christ. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 100B, p. 667-680. 1991.

- CARPENTER, J. M. Biogeographic Patterns in Vespidae (Hymenoptera): two Views of Africa and South America. In: GOLDBLATT, P. (Ed.) *Biological relationships between Africa and South America*. New Haven: Yale University Press, 1993. p.139-155.

- CERVO, R., DANI, F. R. e TURILLAZZI, S. Nestmate recognition in three species of stenogastrinae wasps (Hymenoptera, Vespidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, Nova York, v. 39, p. 311-316. 1996.

- CERVO, R., DANI, F. R., ZANETTI, P., MASSOLO, A. e TURILLAZZI, S. Chemical nestmate recognition in a stenogastrinae wasp, *Liostenogaster flavolineata* (Hymenoptera, Vespidae). *Ethol. Ecol. & Evol.*, v. 14, p. 351-363. 2002.

- CHANDRASHEKARA, K. e GADAGKAR, R. Behavioural caste, dominance and division of labour in a primitively eusocial wasp. *Ethology*, Berlin, v. 87, p. 269-283. 1991.

- CLÉMENT, J. L. e BAGNÈRES, A. G. Nestmate recognition in termites. In: Vander Meer, R. K., Breed, M. D., Winston, M. L. e Espelie, K. E. *Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees and termites.* Westview, Boulder, 1998. p. 57–78.

- DANI, F. R., TURILLAZZI, S. e MORGAN, E. D. Dufour gland secretion of *Polistes* wasp: chemical composition and possible involvement in nestmate recognition (Hymenoptera: vespidae). *J. Insect Physiol*., v. 42, p. 541–548. 1996.

- DANI, F. R., JONES, G. R., DESTRI, S., SPENCER, S. H. e TURILLAZZI, S. Deciphering the recognition signature within the cuticular chemical profile of paper wasps. *Anim. Behav.*, v. 62, p. 165-171. 2001.

- DANI, F. R., JONES, G. R., MORGAN, D. E. e TURILLAZZI, S. Reevaluation of the chemical secretion of the sternal glands of *Polistes* social wasps (Hymenoptera, Vespidae). *Ethol. Ecol. & Evol.*, v. 15, p. 73-82. 2003.

- DANI, F. R., FOSTER, K. R., ZACCHI, F., SEPPA, P., MASSOLO, A., CARELLI, A., ARE´VALO, E., QUELLER, D. C., STRASSMANN, J. E. e TURILLAZZI, S. Can cuticular lipds provide sufficient information for within-colony nepotism in wasps? *Proc. R. Soc. Lond.* B., v. 271, p.745-753. 2004.

- DAPPORTO, L., THEODORA, P., SPACCHINI, C., PIERACCINI, G. e TURILLAZZI, S. Rank and epicuticular hydrocarbons in different populations of the paper wasp *Polistes dominulus* (Christ) (Hymenoptera, Vespidae). *Insect. Soc.*. v. 51, p. 279-286. 2004.

- DAPPORTO, L., SLEDGE, F. M. e TURILLAZZI, S. Dynamics of cuticular chemicals profiles of *Polistes dominulus* workers in orphaned nests (Hymenoptera, Vespidae). *J. Insect Physiol*., v. 51, p. 969-973. 2005.

- DAPPORTO, L., SANTINI, A., DANI, F. R. e TURILLAZZI, S. Workers of a *Polistes* paper wasp detect the presence of their queen by chemical cues. *Chem. Senses*. v. 32, p. 795-802. 2007.

- DAPPORTO, L., LAMBARDI, D. e TURILLAZZI, S. Not only cuticular lipids: First evidence of differences between foundresses and their daughters in polar substances in the paper wasp *Polistes dominulus. J. Insect Physiol*., v. 54, p. 89-95. 2008.

- DIGIAMPIETRI-FILHO, E. A. e SHIMA, S. N. Ecoetologia de *Mischocyttarus cassununga* (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini). In: ANAIS, 3., 1998, Rio Claro. *Simpósio de Iniciação Científica*. Rio Claro: Unesp. 1998. p. 13

- DESUÓ, I. C., MURAKAMI, A. S. N., OLIVEIRA, V. C. e SHIMA, S. N. Overview of caste differentiation in the Polistinae, emphasizing the neotropical swarm-founding Polistinae (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini). *Sociobiology*. v. 53, p. 851-889. 2009.

- ESPELIE, K. E. e HERMANN, H. R. Surface lipids of the social wasp *Polistes annularis* (L.) and its nest and nest pedicel. *J. Chem. Ecol.*, v. 16, p. 1841 – 1852. 1990.

- ESPELIE, K. E., WENZEL, J. W. e CHANG, G. Surface lipids of social wasp *Polistes metricus* Say and its nest and nest pedicel and their relation to nestmate recognition. *J. Chem. Ecol.*, v. 16, p. 2229 – 2241. 1990.

- ESPELIE, K. E., GAMBOA, G. J., GRUDZIEN, T. A. e BURA, E. A. Cuticular hydrocarbons of the paper wasp, *Polistes fuscatus*: a search for recognition pheromones. *J. Chem. Ecol.*, v. 20, n. 7, p.1677-1687. 1994.

- GADAGKAR, R. Dominance hierarchy and division of labour in the social wasp *Ropalidia marginata* (Lep.) (Hymenoptera: Vespidae). *Curr. Sci*., Bangalore, v. 49, p. 772-775. 1980.

- GADAGKAR, R. Belonogaster, Mischocyttarus, Parapolybia, and Independent-founding Ropalidia In: ROSS, K. G. e MATTHEWS, R. W. *The Social Biology of Wasps*. Ithaca: Cornell University, 1991. Cap. 5, p. 149-190.

- GAMBOA, G. J. Intraspecific defense: advantage of social cooperation among paper wasp foundresses. *Science,* Washington, v. 199, p. 1463-1465. 1978.

- GAMBOA, G. J. Kin recognition in social wasps. In: TURILLAZZI, S. e WEST-EBERHARD, M. J. *Natural history and evolution of paper wasp.* Oxford University Press, Oxford, 1996. Cap. 9, p. 161-177.

- GAMBOA, G. J., REEVE, H. K., FERGUSON, I. D. e WACKER, T. L. Nestmate recognition in social wasps: the origin and acquisition of recognition odours. *Anim. Behav.,* London, v. 34, p. 685-695.1986.

- GAMBOA, G. J., GRUDZIEN, T. A., ESPELIE, K. E. e BURA, E. A. Kin recognition pheromones in social wasps: combining chemical and behavioural evidence. *Anim. Behav.*, v. 51, p. 625–629. 1996.

- GIANNOTTI, E. *Estudos biológicos e etológicos da vespa social Neotropica Polistes (Aphanilopterus) lanio lanio (FABRICIUS, 1775) (Hymenoptera, Vespidae).* 1992. 212f., Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Rio Claro, 1992.

- GIANNOTTI, E. The colony cycle of the social wasp, *Mischocyttarus cerberus styx* Richards, 1940 (Hymenoptera, Vespidae). *Rev. Bras. Entomol.*, São Paulo, v. 41, n. 2-4, p. 217-224. 1998.

- GIANNOTTI, E. Social organization of eusocial wasp *Mischocyttarus cerberus styx* (Hymenoptera, Vespidae). *Sociobiology,* Chico, v. 33, n. 3, p. 325-337. 1999.

- GIANNOTTI, E. e FIERI, S. R. On the brood of *Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga* (Ihering, 1903) (Hymenoptera, Vespidae). *Rev. Bras. Entomol.,* São Paulo, v. 35, n. 2, p. 263-267. 1991.

- GIANNOTTI, E. e SILVA, C. V. *Mischocyttarus cassununga* (Hymenoptera, Vespidae): External morphology of the brood during the post-embrionic development. *Rev. Bras. Entomol*., São Paulo, v. 37, n. 2, p. 309-312. 1993.

- GIANNOTTI, E. e TREVISOLI, C. Post-embrionary development of *Mischocyttrus drewseni* Saussure, 1857 (Hymenoptera, Vespidae). *Insecta*, Cruz das Almas, v. 2, n. 2, p. 41-52. 1993.

- GOBBI, N. Ecologia de *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae). 1977. 229f., Dissertação (Tese de Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, 1977.

- GOBBI, N. e SIMÕES, D. Contribuição ao entendimento do ciclo básico de colônias de *Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga* Von Ihering, 1903 (Hymenoptera, Vespidae). *An. Soc. Ent. Brasil*., Jaboticabal, v. 17, n. 2, p. 421-436. 1988.

- GORTON, J. R.E.Observations on the nesting behavior of *Mischocyttarus immarginatus* (Rich.) (Hymenoptera, Vespidae) in a dry forest in Costa Rica. *Insectes Soc.,* Paris, v. 25, n. 3, p. 197-204. 1978.

- HERMAN, H.R. e CHAO, J.T. Nesting biology and defensive behavior of *Mischocyttarus (Monocyttarus) mexicanus cubicola* (Vespidae, Polistinae). *Psyche,* Cambridge, v. 91, p. 51-65, 1984 a.

- HERMAN, H.R. e CHAO, J.T. Morphology of the venon apparatus of *Mischocyttarus mexicanus cubicola* (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae). *J. Georgia Entomol. Soc.,* v.19, n. 3, p. 333-339, 1984 b.

- HOWARD, R. W. Cuticular hydrocarbons and chemical communication. In: STANLEY-SAMUELSON, D.W. e NELSON, D. R. *Insect Lipids: Chemistry, Biochemistry and Biology*. University of Nebraska Press, Lincoln, 1993. pp. 179–226.

- HOWARD, R. W. e BLOMQUIST, G. J. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.,* v. 50, p. 371-393. 2005.

- HUNT, J. H. Nourishment and evolution of the social vespidae. In: ROSS, K. G. e MATTHEWS, R. W. *The Social Biology of Wasps*. Ithaca: Cornell University, 1991. Cap. 12, p. 426-450.

- HUNT, J. H. Nourishment and social evolution in wasps sensu lato In: HUNT, J. H.; NALEPA, C. A. *Nourishment and evolution in insect societies.* San Francisco: Westview Press. 1994. Cap.7, p. 211-244.

- ITÖ, Y. Social behavior and social structure of neotropical paper wasp *Mischocyttarus angulatus* Richards and *M. basinacula* (Camaeron) *J. Ethology,* Tokyo, v.2, n.1, p.17-29, 1984.

- ITÖ, Y. Role of pleometrosis in the evolution of eusociality in wasps In: ITÔ, Y.; BROWN, J. L. e KIKKAWA, J. *Animal Societies: Theories and facts* Tokyo, Japan sci. Soc. Press, 1987. p. 17-34, 1987.

- JEANNE, R.L. Chemical defense of brood by the social wasp. *Science*, Washington, v. 168. p. 1465-1466. 1970.

- JEANNE, R. L. Social biology of the Neotropical Wasp *Mischocyttarus drewseni*. *Bull. Mus. Comp. Zool*., Boston, v. 144, n.3, p. 63-150, 1972.

- JEANNE, R L. Evolution of social behavior in the Vespidae. *Ann. Rev. Entomol.*, Stanford, v. 25, p.371-395. 1980.

- JEANNE, R. L. The evolution of the organization of work in social insects. *Monitore Zool. Ital.*, Firenze, v. 20, p. 119-133. 1986.

- JEANNE, R. L. The swarm-founding Polistinae In: ROSS, K. G. e MATTHEWS, R. W. *The Social Biology of Wasps*. Ithaca: Cornell University, 1991. Cap. 6, p. 191-231.

- JEANNE, R. L. e CASTELLÓN-BERMUDÉZ, E. G. Reproductive behavior of a male neotropical social wasp *Mischocyttarus drewseni* (Hymenoptera, Vespidae). *J. Kansas Entomol. Soc*., Manhattan, v.53, n.2, p.271-276. 1980.

- JEANNE, R. L., DOWNING, H.A. e POST, D.C. Morphology and function of sternal in polistine wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Zoomorphology* (Berl.), Berlim. v. 103, n. 3, p.149-164. 1983.

- KATHER, R., DRIJFHOUT, F. P. e MARTIN, S. J. Task group diffenrences in cuticular lipids in the honey bee *Apis mellifera*. *J. Chem. Ecol.*, v. 37, p. 205-212. 2011.

- KEEGANS, S. J., MORGAN, E. D., TURILLAZZI, S., JACKSON, B. D. e BILLEN, J. The Dufour gland and the secretion placed on eggs of two species of paper wasps, *Liostenogaster flavolineata* and *Parischnogaster jacobsoni* (Vespidae, Stenogastrinae). *J. Chem. Ecol.*, v. 19, n. 2, p. 279-290. 1993.

- KEEPING, M. G. Morpho-physiological variability and differentiation of reproductive roles among foundresses of the primitively eusocial wasp, *Belonogaster petiolata* (Deeger) (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Soc*., Paris, v. 47, p.147-154. 2000.

- LAYTON, J. M., CAMANN, M. A. e ESPELIE, K. E. Cuticular lipid profiles of queens, workers and males of social wasp *Polistes metricus* Say are colony-specific. *J. Chem. Ecol.*, v. 20, p. 2307-2321. 1994.

- LITTE, M. Behavioral ecology of the social wasp *Mischocyttarus mexicanus*. *Behav. Ecol. Sociobio.*, Ithaca, v. 2, p. 229-312. 1977.

- LITTE, M. *Mischocyttarus flavitarsus* in Arizona: social and nesting biology of a polistine wasp. *Z. Tierpsychol*., Berlin e Hamburg, v. 50, p. 282-312. 1979.

- LITTE, M. Social biology of the polistine wasp *Mischocyttarus labiatus*: survival in a Colombia rain forest. *Contr. Zool*., Washington, v. 317, p. 1-26. 1981.

- LORENZI, M. C., BAGNÈRES, A. G. e CLÉMENT, J. L. The role of cuticular hydrocarbons in insect societies: is it the same in paper wasps? In: TURILLAZZI, S. e WEST-EBERHARD, M. J. *Natural History and the Evolution of Paper Wasps*. Oxford University Press, Oxford, 1996. p. 178–189.

- LORENZI, M. C., BAGNÈRES, A. G., CLÉMENT, J. –L., TURILLAZZI, S. *Polistes biglumis bimaculatus* epicuticular hydrocarbons and nestmate recognition (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Soc*., Paris, v. 44, p. 123-138. 1997.

- LORENZI, M. C., SLEDGE, M. F., LAIOLO, P., STURLINI, E. e TURILLAZZI, S. Cuticular hydrocarbon dynamics in young adult *Polistes dominulus* (Hymenoptera, Vespidae) and the role of linear hydrocarbons in nestmate recognition systems. *J. Insect Physiol*., v. 50, p. 935-941. 2004.

- MACHADO, V. L. L. e WIENDL, F. M. Aspectos do comportamento de colônias de *Mischocyttarus cassununga* von Ihering, tratadas com alimento marcado por radiofósforo (32p). *An. Soc. ent. Brasil*., Jaboticabal, v. 5, n. 1, p.79-85. 1976.

- MARCHAL, P. 1896. La reproduction et evolution des guepes social. *Arch. Zool. Exp. Gen.*, Paris, v. 4, p. 1-100. In: WILSON, E. O. *The insect societies*. Cambridge, Belknap Press of Harvard Univ. Press, 1971. 548 p.

- MARCHAL, P. 1897. La castration nutriciale chez les Hyménopteres sociaux. *C. R. Soc. Biol.*, Paris, p. 556-557. In: WILSON, E. O. *The insect societies.* Cambridge, Belknap Press of Harvard Univ. Press, 1971. 548 p.

- MARKIEWICZ, D. A. e O´DONNELL, S. Social dominance, task performance and nutrition: implications for reproduction in eusocial wasps. *J. Comp. Physiol. A, Sens. Neural Behav. Physiol*., Nova York, v. 187, p. 327-333, 2001.

- MONTEIRO, I. S. *Determinação de castas em Mischocyttarus cerberus styx Richards, 1940 (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini).* 2002, 36f, Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2002.

- MURAKAMI, A. S. *Influência da alimentação na determinação de castas da vespa eusocial primitiva Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga Von Ihering (1903) (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini).* 2003, 81f., Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2003.

- MURAKAMI, A. S. *Diferenciação etológica e morfofisiológica das castas de Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga, Von Ihering, 1903 (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini), com especial referência à regulação social das colônias*. 2007. 213f., Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Rio Claro, 2007.

- MURAKAMI, A. S. N. e SHIMA, S. N. Nutritional and Social Hierarchy Establishment of the Primitively Eusocial Wasp *Mischocyttarus cassununga* (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini) and Related Aspects. *Sociobiology*, Chico, v. 48, n. 1, p 183-207. 2006.

- MURAKAMI, A. S. N. & SHIMA, S. N. Queen replacement in *Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga* (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini): a particular case. *Sociobiology*, Chico, v. 53, n. 1, p 247-257. 2009.

- MURAKAMI, A. S. N., SHIMA, S. N. & DESUÓ, I. C. More than one inseminated female in colonies of the independent-founding wasp *Mischocyttarus cassununga* Von Ihering, 1903 (Hymenoptera, Vespidae). *Rev. Bras.Entomol.*, Curitiba, v. 53, n. 4, p. 653-662. 2009.

-MURAKAMI, A. S. N. & SHIMA, S. N. Regulation of social hierarchy over time in colonies of the primitive eusocial wasp *Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga*. Von Ihering, 1903 (Hymenoptera, Vespidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* v. 83, n. 2, p. 163-171. 2010.

- NASCIMENTO, F. S., TANNURE-NASCIMENTO, C. I. e RAPOSO-FILHO, J. R. Population dynamics of the neotropical swarm-founding wasp *Apoica flavissima* (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini), with emphasis on caste dimorphism. *Sociobiology.* v. 42, n. 2, p. 113-122. 2003.

- NAUG, D. e GADAGKAR, R. Division of labor among a cohort of young individuals in a primitively eusocial wasp. *Insectes Soc*., Paris, v. 45, p. 247- 254. 1998.

- NODA, S. C. M. *Determinação e diferenciação de castas em Mischocyttarus (Mischocyttarus) drewseni Saussure, 1857 (Hymenoptera, Vespidae) de acordo com a perspectiva nutricional e aspectos relacionados*. 2005. 110f., Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Rio Claro, 2005.

- NODA, S. C. M., SILVA, R. E. e GIANNOTTI, E. Dominance hierarchy in different stages of development in colonies of the primitively eusocial wasp *Mischocytarus cerberus styx* (Hymenoptera, Vespidae). *Sociobiology*, Chico, v. 38, n. 3B, p. 603-614. 2001.

- NODA, S. C. M., SHIMA, S. N. e NOLL, F. B. Morphological and physiological caste differences in *Synoeca cyanea* (Hymenoptera,Vespidae,Epiponini) according to the ontogenetic development of colonies. *Sociobiology*, Chico, v. 41, n. 3, p. 547-569, 2003.

- NOLL, F. B. e ZUCCHI, R. Increasing caste differences related to life cycle progression in some neotropical swarm-founding plygynic wasp (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini). *Ethol. Ecol. & Evol.*, v. 12, n. 1, p. 43-65. 2000.

- O'DONNELL, S. Reproductive caste determination in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Ann. Rev. Entomol.*, Stanford, v. 43, p. 323-346. 1998a.

- O'DONNELL, S. Dominance and polyethism in the eusocial wasp *Mischocyttarus mastigophorus* (Hymenoptera: Vespidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, Nova York, v. 43, p. 327-331, 1998b.

- OLIVEIRA, V. C. *Comportamentos de dominância e subordinação da vespa eussocial primitiva, Mischocyttarus (Monogynoecus) montei ZIKÁN, 1949 (Hymenoptera,Vespidae,Mischocyttarini).* 2003. 73f., Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2003.

- OLIVEIRA, V. C. *Diferenciação etológica e morfofisiológica das castas de Mischocyttarus (Monogynoecus) montei, Zikán, 1903 (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini), com especial referência à regulação social das colônias*. 2007. 159f., Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Rio Claro, 2007.

- PAES DE OLIVEIRA, V. T., *Relação entre o corpo gorduroso e a vitelogênese em fêmeas de Melipona quadrifasciata anthidioides Lep.* 2005. 129f., Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Rio Claro, 2005.

- PAGE, R. E. Jr., METCALF, R. A., METCALF, R. L., ERICKSON, E. H. Jr. e LAMPMAN, R. L. Extractable hydrocarbons and kin recognition in honeybee (*Apis mellifera* L.). *J. Chem. Ecol.,* v. 17, n. 4, p. 745-756. 1991.

- PANEK, L. M. e GAMBOA, G. J. Queens of the paper wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera, Vespidae) discriminate among larvae on the basis of relatedness. *Ethology,* Berlin, v. 106, p. 159-170. 2000.

- PANEK, L. M., GAMBOA, G. J. e ESPELIE, K. E. The effect of a wasp's age on its cuticular hydrocarbon profile and its tolerance by nestmate and non-nestmate conspecifics (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae). *Ethology*. V. 107, p. 55-63. 2001.

- PARDI, P. Dominance order in *Polistes* wasps. *Physiol. Zool*., v. 21, p. 1-13, 1948.

- PEETERS, C., MONNIN, T. e MALOSSE, G. Cuticular hydrocarbons correlated with reproductive status in a queenless ant. *Proc. R. Soc. Lond.* B., v. 266, p. 1323–1327. 1999.

- PFENNIG, D.W., REEVE, H. K. e SHELLMAN, J. S. Learned component of nestmate discrimination in workers of a social wasp, *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae). *Anim. Behav*., London, v. 31, p. 412 – 416. 1983.

- PICKETT, K. M., MCHENRY, A. e WENZEL, J. W. Nestmate recognition in the absence of a pheromone. *Insectes soc*., v. 47, p. 212-219. 2000.

- POST, D. C. e JEANNE, R.L. Colony defense against ants by *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae) in Wisconsin. *J. Kans. Ent. Soc*., v. 54, n. 3, p. 599-625. 1980.

- PRATTE, M. Foundress association in the paper wasp *Polistes dominilus* Christ (Hymen. Vesp.). Effects of dominance hierarchy on the division of labour. *Behaviour*, Leiden, v. 111, p. 208-219, 1989.

- PREMNATH, S., CHANDRASHEKARA, K., CHANDRAN, S. e GADAGKAR, R. Constructing dominance hierarchies in a primitively eusocial wasp. In: Proceedings of the 11th International Congress of IUSSI Bangalore. 11., 1991, New Delhi. *Social*

Insects and the Environment. New Delhi: VEERESH, G. K., MALLIK, B. & VIRAKTAMATH, C. A. (Eds.) Oxford & IBH Publishing Co. 1991. p. 80.

- PREZOTO, F. e NASCIMENTO, F.S. Nota sobre ocorrência de usurpação de um ninho de *Mischocyttarus cassununga* por *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae**).** *Rev. Etol.*, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 69-71. 1999.

- PREZOTO, F., VILELA, A. P. P., LIMA, M. A. P., D'AVILA, S., SINZATO, M. S., ANDRADE, F. R., SANTOS-PREZOTO, H. H. e GIANNOTTI, E. Dominance Hierarchy in Different stages of development in colonies of the primitively eusocial wasp *Mischocyttarus cassununga* (Hymenoptera, Vespidae). *Sociobiology*, Chico, v. 44, n. 2, p. 379-390, 2004.

- RAPOSO-FILHO, J. R. e RODRIGUES, V. M. Comportamentos tróficos de *Mischocyttarus (Monocyttarus) extinctus* Zikán, 1935 (Polistinae, Vespidae). I. Alimentação proteica. *Naturalia*, São Paulo, v. 8, p. 101-104. 1983a.

- RAPOSO-FILHO, J. R. e RODRIGUES, V. M. Comportamentos tróficos de *Mischocyttarus (Monocyttarus) extinctu* (Vespidae, Polistinae), II. Alimentação glucídica. *Naturalia*, São Paulo, v. 8, p. 105-107. 1983b.

- RATNIEKS, F. L. W. The evolution of genetic odor-cue diversity in social hymenoptera. *Am. Nat.*, Chicago, v. 137, n. 2, p. 202-226. 1991.

- REEVE, H. K. e GAMBOA, G. J. Colony activity integration in the primitively eusocial wasps: the role of the queen *(Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae). *Behav. Ecol. Sociobiol*., New York, v. 13, p. 63-74. 1983.

- RICHARDS, O. W. The biology of the social wasp (Hymenoptera, Vespidae). *Biol. Rev*., v. 46, p. 483-528. 1971.

- RICHARDS, O. W. *The social wasps of America excluding the Vespinae.* Londres, Br. Mus. Nat., 1978, 580p.

- RICHARDS, O. W. e RICHARDS, M. J. Observations on the social wasps of South America (Hymenoptera, Vespida**).** *Trans. R. Ent. Soc. Lond*., v. 102, p. 1-170. 1951.

- RÖSELER, P.-F. Reproductive Competition during Colony Establishment. In: The biology of the social wasp. In: ROSS, K. G. e MATTHEWS, R. W. *The Social Biology of Wasps*. Ithaca: Cornell University, 1991. Cap. 9, p. 311-333.

- RÖSELER, P.-F., RÖSELER, I. e STRAMBI, A. Role of ovaries and ecdysteroids in dominance hierarchy establishment among foundresses of the primitively social wasp, *Polistes gallicus. Behav. Ecol. Sociobiol.*, New York, v. 18, p. 9-13. 1985.

- SAKAGAMI, S. F. e YAMANE, S. A behavior inventory of the females of two Stenogastrine wasps *Parischnogaster mellyi* and *Liostenogaster vechti* (Hymenoptera, Vespidae). In: SAKAGAMI, S. F., OHGUSHI, R. e ROUBIK, D. W. *Natural history of*

social wasps and bees in Equatorial Sumatra. Hokkaido University Press, Sapporo. 1990. Cap. 5, p. 73-96.

- SAKAMOTO, S. T. *Ciclo de vida de Mischocyttarus (Monogynoecus) montei Zikán, 1949 (Hymenoptera,Vespidae, Mischocyttarini).* 2000. 82f., Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2000.

- SHIMA-MACHADO, S. N. *Diferenciação de castas em algumas espécies de vespas sociais do Brasil (Hymenoptera, Vespidae, Polybiini).* 1983. 226f., Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, 1983.

- SHIMA, S.N. *Variabilidade das castas em algumas espécies de vespas sociais (Hymenoptera,Vespidae,Polybiini).* 1991. 254f., Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Rio Claro, 1991.

- SHIMA, S.N., NOLL, F.B. e ZUCCHI, R. Morphological caste difference in the neotropical swarm-founding polistine wasp, *Brachygastra lecheguana* (Hymenoptera,Vespidae,Epiponini). *Sociobiology*, Chico, v. 36, n. 1, p.41-52, 2000.

- SHIMA, S.N., NOLL, F.B. e ZUCCHI, R. Influence of the colony cicle on physiological and morphological caste variation in the perennial neotropical swarm-founding social wasp, *Protonectarina sylveirae* (Hymenoptera,Vespidae,Epiponini). *Sociobiology*, Chico, v. 42, n. 2, p.449-466, 2003.

- SHIMA, S.N., NOLL, F. B., ZUCCHI, R. e YAMANE, S. Morphological caste differences in the Neotropical swarm-founding Polistine wasps IV. *Pseudopolybia vespiceps*, with oreliminary considerations on the role of intermediate females in the social organization of the Epiponini (Hymenoptera,Vespidae). *J. Hym. Res.*, Washington, v. 7, n. 2, p. 280-295. 1998.

- SHIMA, S.N., YAMANE, SÔ. e ZUCCHI, R. Morphological caste differences in some Neotropical swarm-founding polistine wasps. II. *Polybia dimidiata* (Hymenoptera,Vespidae). *Jpn. J. Entomo.*, Tokyo, v. 64, p. 131-144. 1996 a.

- SHIMA, S.N., YAMANE, SÔ. e ZUCCHI, R. Morphological caste differences in some Neotropical swrm-foundung polistine wasps. I. *Apoica flavissima* (Hymenoptera,Vespidae). *Jpn. J. Entomo.*, Tokyo, v. 62, p. 811-822. 1994.

- SHIMA, S.N., YAMANE, SÔ. e ZUCCHI, R. Morphological caste differences in some Neotropical swarm-founding polistine wasps. III. *Protonectarina sylveirae* (Hymenoptera,Vespidae). *Bull. Fac. Ed., Ibaraki University*, v. 42, p. 57-67, 1996b.

- SILVA, M. N. e OLIVEIRA S. M. C. Variação no tamanho do corpo e no desenvolvimento de *Mischocyttarus atramentarius* (Hymenoptera, Vespidae), durante o ciclo de desenvolvimento das colônias. *Bol. I. C. B. G.*, v. 42, p. 25-36. 1989.

- SILVA, I. M. *Determinação de castas em Mischocyttarus cerberus styx Richards, 1940 (Hymenioptera,Vespidae,Mischocyttarini) sob a perspectiva nutricional*. 2002. 36f., Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2002.

- SILVA, I. M. *Diferenciação etológica e morfofisiológica das castas de Mischocyttarus cerberus styx Richards,1940 (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini), com especial referência à dinâmica do estabelecimento da hierarquia social.* 2008. 95f Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Rio Claro, 2008.

- SILVEIRA, T. S. *Relações filogenéticas dos subgêneros de Mischocyttarus Sauusure e revisão taxonômica do subgênero KAPPA Saussure (Hymenoptera,Vespidae, Polistinae).* 2000. 295f., Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.`

- SILVEIRA, O. T. Phylogeny of wasps of the genus *Mischocyttarus* de Saussure (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae). *Rev. Bras. Entomol.*, v. 52, n. 4, p, 510-549. 2008.

- SIMÕES, D., GOBBI, N. e BATARCE, B. R. M. Mudanças sazonais na estrutura populacional em colônias de três espécies de vespas do gênero *Mischocyttarus* (Hymenoptera, Vespidae). *Naturalia*, São Paulo, v. 10, p. 89-105. 1985.

- SINGER, T. L. Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. *Am. Zool.*, v. 38, n. 38, p. 394-405. 1998.

- SINGER, T. L. e ESPELIE, K. E. Social wasps use nest paper hydrocarbons for nestmate recognition. *Anim. Behav.*, v. 44, 63-68. 1992.

- SINGER, T. L. e ESPELIE, K. E. Exposure to nest paper hydrocarbons is important for nest recognition by a social wasp, *Polistes metricus* Say (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Soc*., Paris, v. 44, p. 245-254. 1997.

- SINGER, T. L., CAMANN, M. A. e ESPELIE, K. E. Discriminant analysis of cuticular hydrocarbons of *Polistes exclamans* Viereck and surface hydrocarbons of its nest paper and pedicel. *J. Chem. Ecol.*, v. 18, n. 5, p. 785-797. 1992.

- SLEDGE, M. F., FORTUNATO, A., TURILLAZZI, S., FRANCESCATO, E., HASHIM, R., MONETI, G. e JONES, G. R. Use of Dufour's gland secretion in nest defense and brood nutrition by hover wasps. *J. Insect Physiol*., v. 46, p. 753-761. 2000.

- SLEDGE, M. F., BOSCARO, F. e TURILLAZZI, S. Cuticular hydrocarbons and the reproductive status in the social wasp *Polistes dominulus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* Nova York, v. 49, p. 401-409. 2001.

- SLEDGE, M. F., TRINCA, I., MASSOLO, A., BOSCARO, F. e TURILLAZZI, S. Variation in cuticular hydrocarbon signatures, hormonal correlates and establishment of reproductive dominance in a polistine wasp. *J. Insect Physiol*., Oxford, v. 50, p. 73-83. 2004.

- SOUZA, A. R. de, FIGUEIREDO, B. B. M., RIBEIRO, B., PINHEIRO, R., JUSTINO, L., CASTRO, M. M. de. e PREZOTO, F. The performance of dominance indices for constructing dominance hierarchies in *Mischocyttarus* and *Polistes* wasps (Hymenoptera, Vespidae). *Florida Entomol.*, v. 94, n. 4, p. 869-873. 2011.

- STRASSMANN, J. E. Nest fidelity and group size among foundresses of *Polistes annularis* (Hymenoptera: Vespidae). *J. Kans. Entomol. Soc*., Manhattan, v. 56, n. 4, p. 621-634. 1983.

- SUMANA, A., LIEBERT, A. E., BERRY, A. S., SWITZ, G. T., ORIANS, C. M. e STARKS, P. T. Nest hydrocarbons as cue for philopatry in a paper wasp. *Ethology*. v. 111, p. 469-477. 2005.

- TANNURE-NASCIMENTO, I. C., NASCIMENTO, F. S. e ZUCCHI, R. Size and colony cycle in *Polistes satan*, a Neotropical paper wasp (Hymenoptera, Vespidae). *Ethol. Ecol. & Evol*., Firenze, v. 17, p. 105-119. 2005.

- TANNURE-NASCIMENTO, I. C., NASCIMENTO, F. S. e ZUCCHI, R. The look of royalty: visual and odour signals of reproductive status in a paper wasp. *Proc. R. Soc. Lond.* B., v. 11, p. 1-8. 2008.

- TANNURE-NASCIMENTO, I. C., NASCIMENTO, F. S., TURATTI, I. C., LOPES, N. P., TRIGO, J. R. e ZUCCHI, R. Colony membership is reflected by variations in cuticular hydrocarbon profile in a Neotropical paper wasp, *Polistes satan* (Hymenoptera, Vespidae). *Gen. Mol. Res.*, v. 6, n. 2, p. 390-396. 2007.

- TIBBETTS, E. A. Visual signals of individual identity in the wasp *Polistes fuscatus*. *Proc. R. Soc. Lond.* B., v. 269, p. 1423-1428. 2002.

- TIBBETTS, E. A. e DALE, J. A socially enforced signal of quality in a paper wasp. *Nature*. v. 432, p. 218-222, 2004.

- TINDO, M. e DEJEAN, A. Behavioral profiles related to dominance hierarchy in associated foundresses of *Belonogaster juncea juncea* (F.) (Hymenoptera: Vespidae). *J. Insect Behav*., New York, v. 11, n. 6, p. 845-852. 1998.

- TINDO, M., AGOSTINO, P. D., FRANCESCATO, E., DEJEAN, A. e TURILLAZZI, S. Associative colony foundation in the tropical wasp *Belonogaster juncea juncea* (Vespidae, Polistinae). *Insectes Soc*., Paris, v. 44, p. 365-377. 1997.

- TOGNI, O. C. e GIANNOTTI, E. Male behavior of *Mischocyttarus cerberus styx* (Hymenoptera, Vespidae) during attacks on the nest by ants. *Sociobiology*, Chico, v. 48, n. 2, p. 553-558. 2006.

- TOGNI, O. C. e GIANNOTTI, E. Colony defense behavior of the primitively eusocial wasp *Mischocyttarus cerberus* is related to age. *J. Insect Sci.*, v. 10, n. 136, p. 1-14. 2010.

- TORRES, V. de O., ANTONIALLI-JUNIOR, W. F. e GIANNOTTI, E. Divisão de trabalho em colônias da vespa social netropical *Polistes canadensis canadensis* Linnaeus (Hymenoptera, Vespidae). *Rev. Bras. Entomol.*, v. 53, n. 4, p. 593-599. 2009.

- TURILLAZZI, S. Tegumental glands in the abdomen of some European *Polistes* (Hymenoptera, Vespidae). *Monit. Zool. Ital.*, v. 13, p. 67–70. 1979.

- TURILLAZZI, S. e WEST-EBERHARD, M. J. *Natural history and evolution of paper-wasps*. Oxford University Press, 1996. 400p.

- TURILLAZZI, S., SLEDGE, M. F., DAPPORTO, L., LANDI, M., FANELLI, D., FONDELLI, L., ZANETTI, P. e DANI, F. R. Epicuticular lipids and fertility in primitively eusocial wasps (Hymenoptera, Stenogastrinae). *Physiol. Entomol.*, v. 29, p. 464-471. 2004.

- VECHT, J. VAN DER. 1968. The terminal gastral sternite of female and worker social wasps (Hymenoptera, Vespidae). *Proc. K. Ned. Akad. Wet. Ser. C Biol. Med. Sci.*, v. 71, p. 411–422, 1968.

- WHEELER, D. E. Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: Evolutionary implications. *Am. Nat.*, Chicago, v. 128, n. 1, p. 13-34. 1986.

- WHEELER, D. E. Nourishment in ants: patterns in individuals and societies. In: HUNT, J. H. e NAPELA, C. A. Nourishment and evolution in insects societies. Westview Press, Boulder, p. 245-278. 1994.

- WHEELER, D. The role of nourishment in oogenesis. *Ann. Rev. Entomol*., Stanford, v. 41, p. 407-431. 1996.

- WEST-EBERHARD, M. J. The social biology of Polistine wasps. *Misc. Publ. Mus. Publ. Zool. Univ. Mich.*, v. 140, p. 1-101. 1969.

- WILSON, E. O. *The insect societies*. Cambridge, Belknap Press of Harvard Univ. Press, 1971, 548 p.

- YAMANE, S., SAKAGAMI, S. F. e OHGUSHI, R. Social behavior in the Stenogastrine wasp *Parischnogaster mellyi* (Hymenoptera, Vespidae). In: SAKAGAMI, S. F., OHGUSHI, R. e ROUBIK, D. W. *Natural history of social wasps and bees in Equatorial Sumatra.* Sapporo, Hokkaido University Press, 1990. Cap. 6, p. 97-111.

- ZABBOTTO, E. C. e SHIMA, S. N. Estudos preliminares sobre diferenças individuais dos comportamentos realizados por *Mischocyttaurus sp* (Vespidae, Mischocyttarini). In: ANAIS, 3., 1998, Rio Claro. *Simpósio de Iniciação Científica*. Rio Claro: Unesp. 1998. p. 69

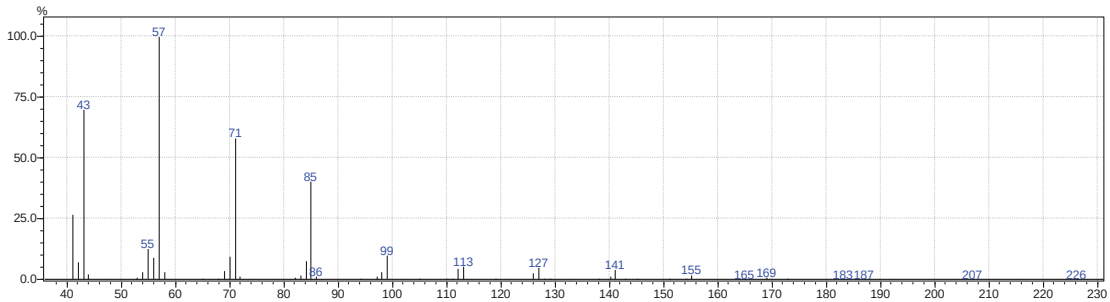
- ZANETTI, P., DANI, F. R., DESTRI, S., FANELLI, D., MASSOLO, A., MONETI, G., PIERACCINI, G. E TURILLAZZI, S. Nestmate recognition in *Parischnogaster striatula* (Hymenoptera, Stenogastrinae), visual and olfactory recognition cues. *J. Insect Physiol*., v. 47, p. 1013-1020. 2001.

- ZAR, H. J. *Biostatistical Analysis, fourth edition*. New Jersey, Upper Saddle River, Prentice-Hall International, 1999, 931 p.

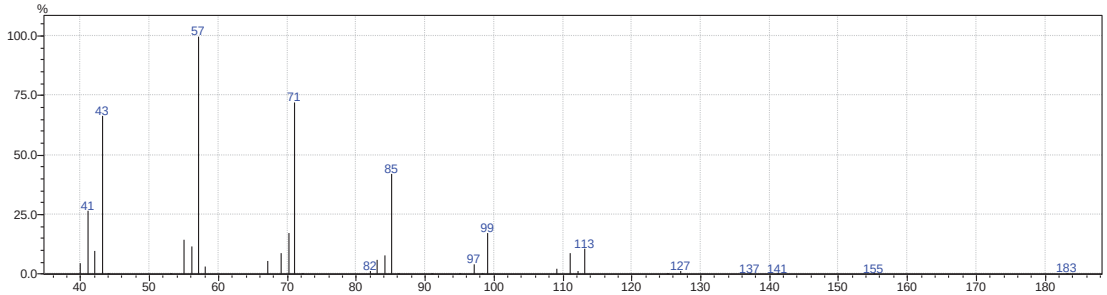
APÊNDICE

APÊNDICE

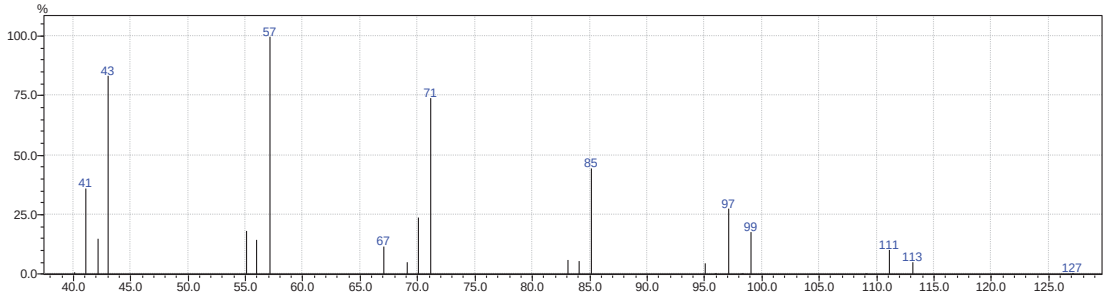
ESPECTROS DE MASSA DOS COMPOSTOS CUTICULARES IDENTIFICADOS em *Mischocyttarus cassununga*



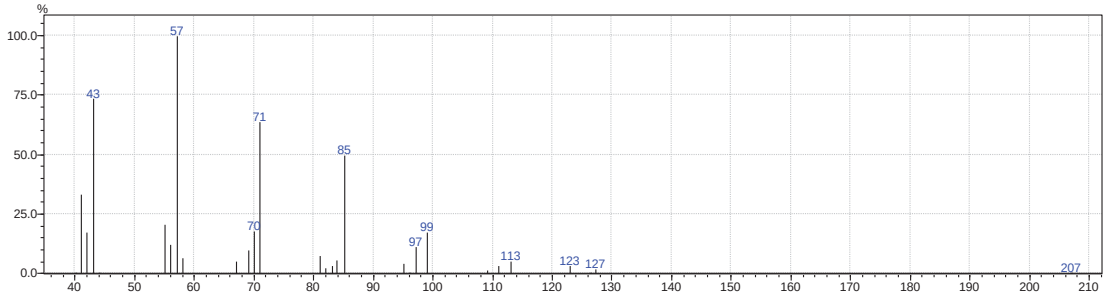
Hexadecano (C16) –Tempo de retenção: 5.90 minutos



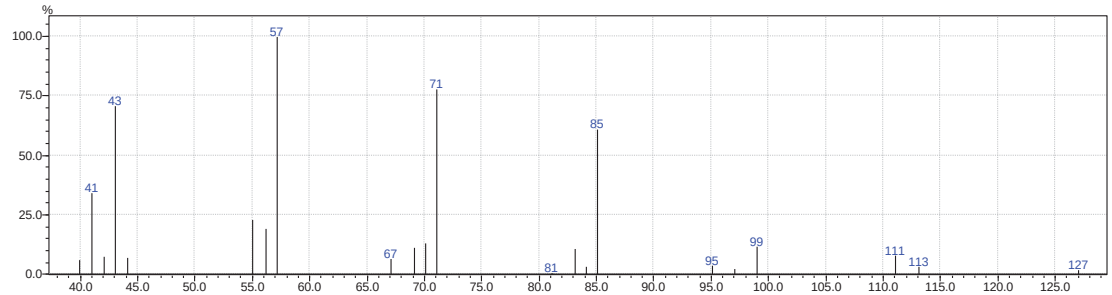
Heptadecano (C17) –Tempo de retenção: 7.86 minutos



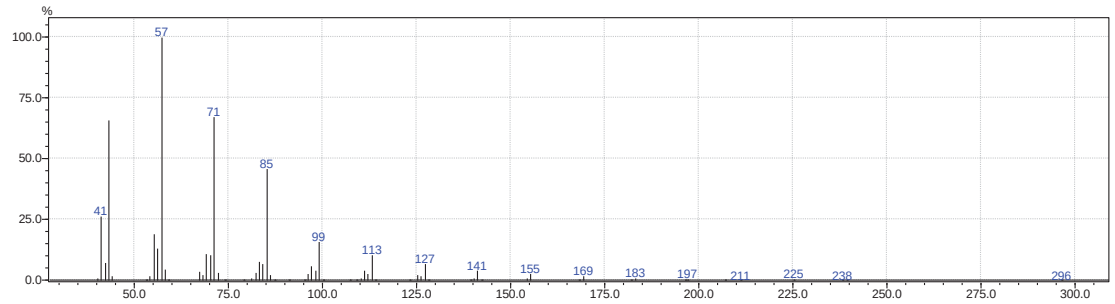
Octadecano (C18) –Tempo de retenção: 10.10 minutos



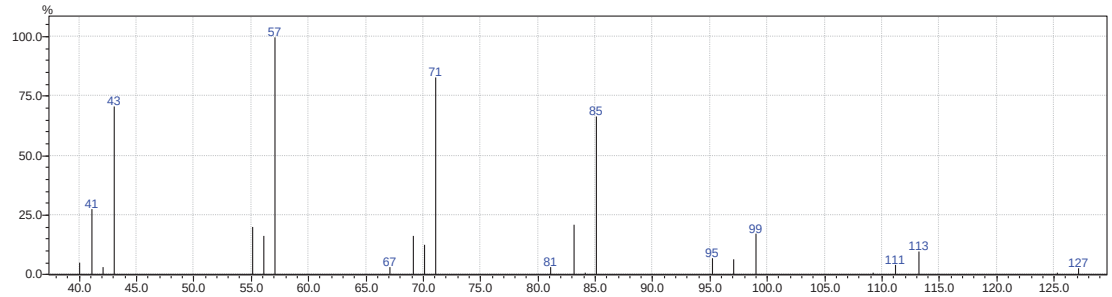
Nonadecano (C19) –Tempo de retenção: 12.62 minutos



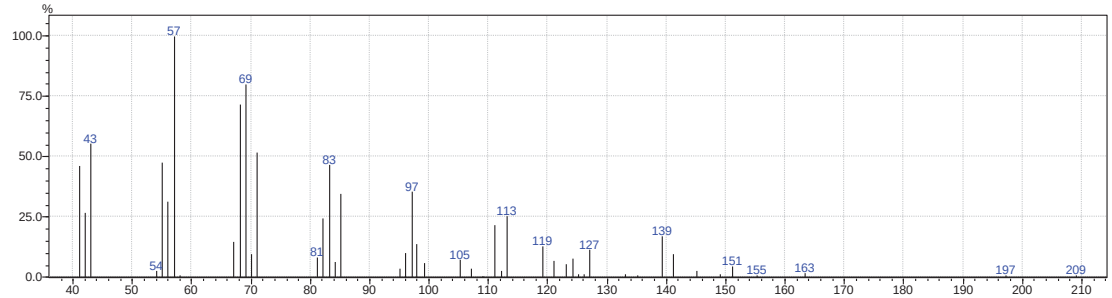
Eicosano (C20) –Tempo de retenção: 15.31 minutos



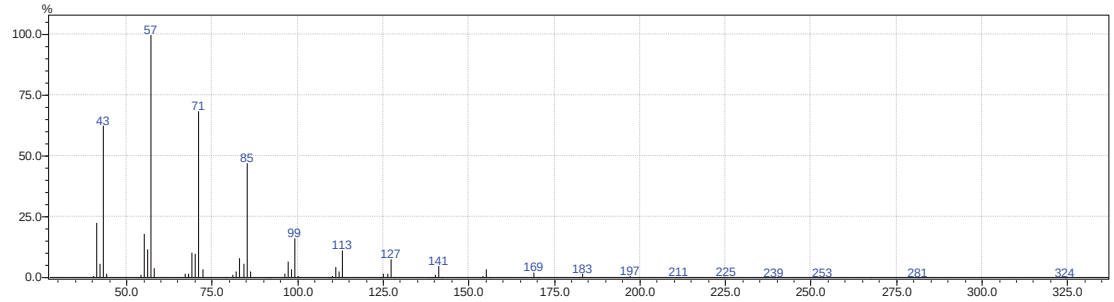
Heneicosano (C21) –Tempo de retenção: 18.08 minutos



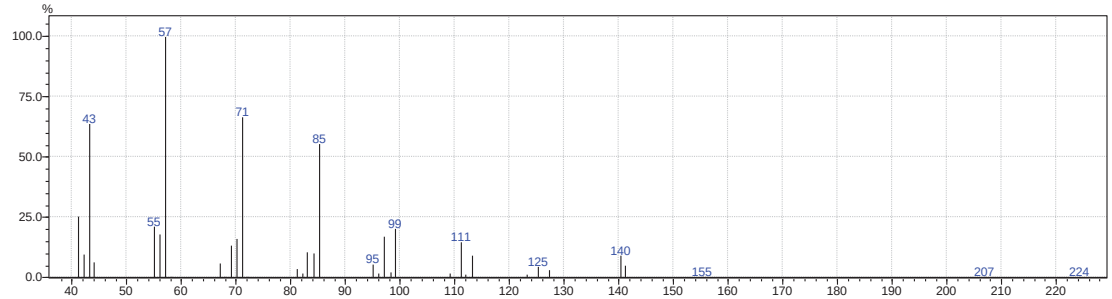
Docosano (22) –Tempo de retenção: 20.82 minutos



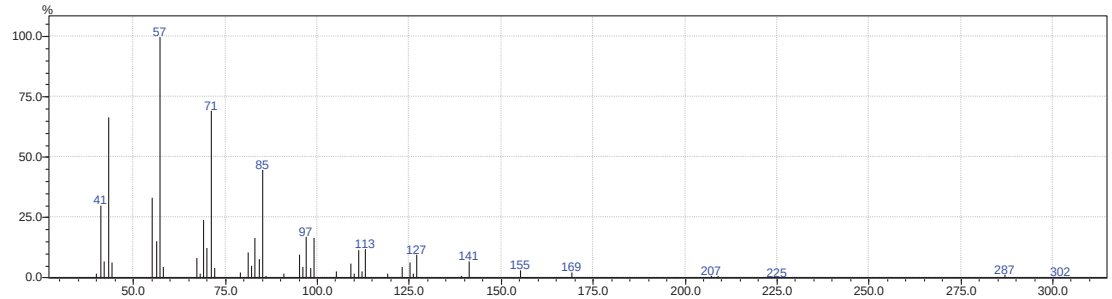
11-Metildocosano –Tempo de retenção: 22.79 minutos



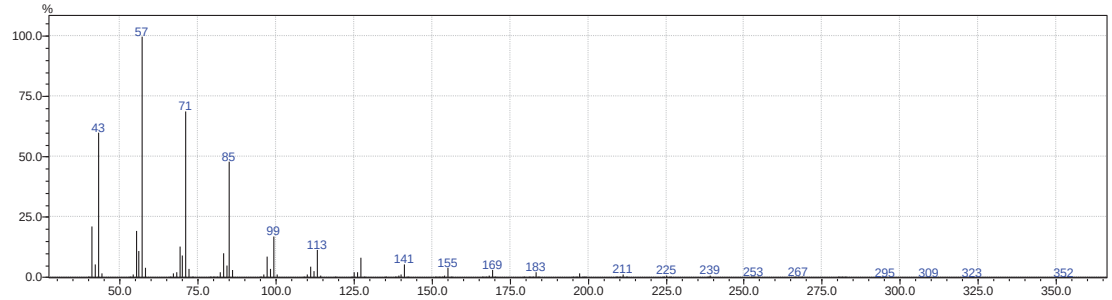
Tricosano (C23) –Tempo de retenção: 23.35 minutos



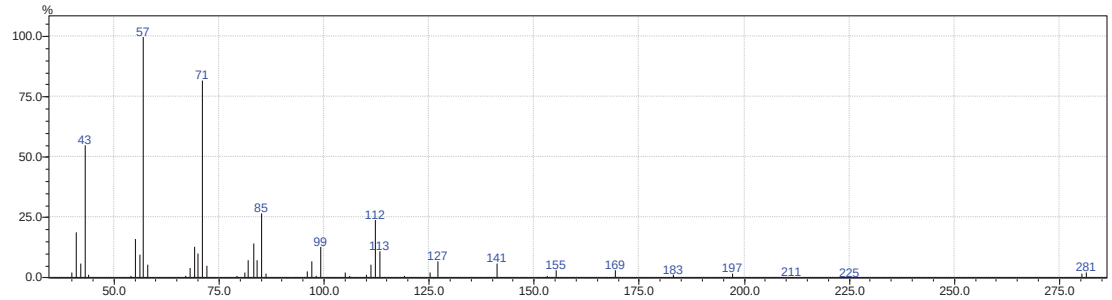
9-Metiltricosano –Tempo de retenção: 24.56 minutos



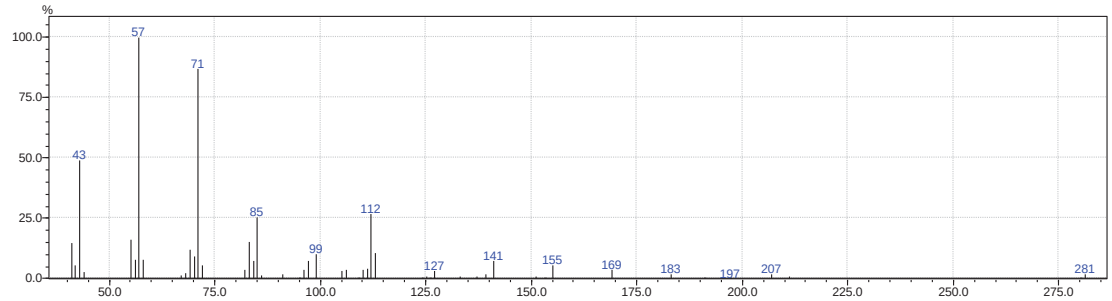
Tetracosano (C24) –Tempo de retenção: 26.22 minutos



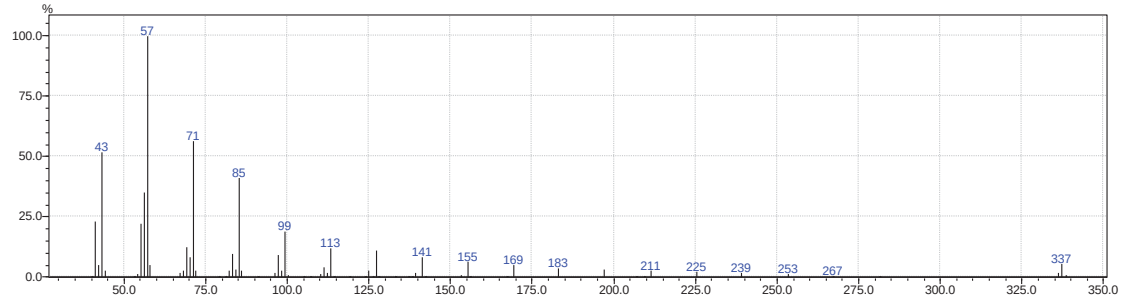
Pentacosano (C25) –Tempo de retenção: 28.81 minutos



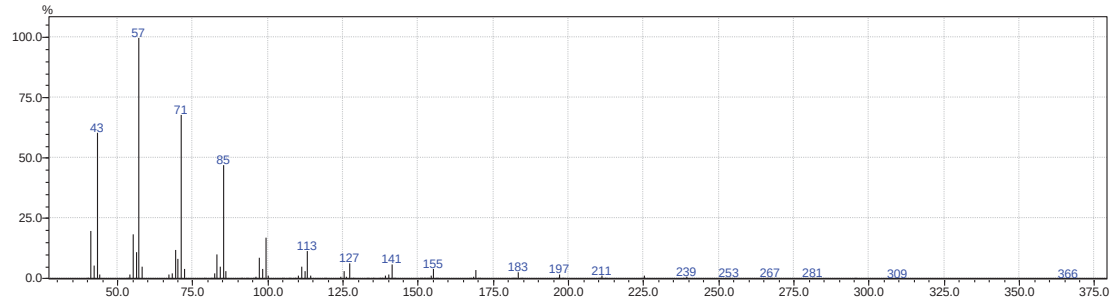
8-Metilpentacosano –Tempo de retenção: 29.72 minutos



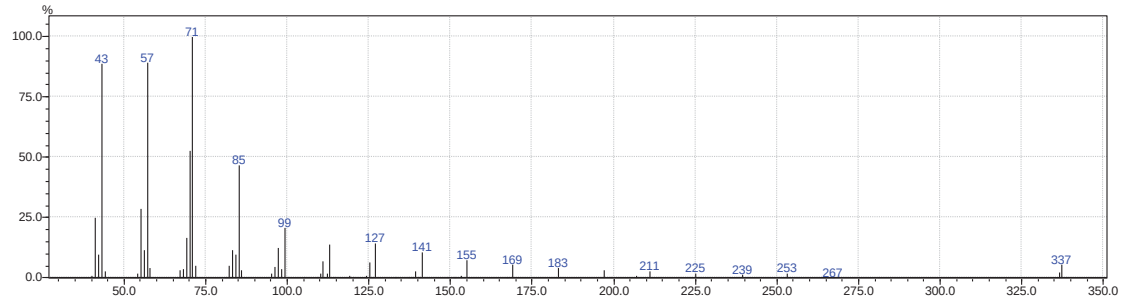
7-Metilpentacosano –Tempo de retenção: 29.80 minutos



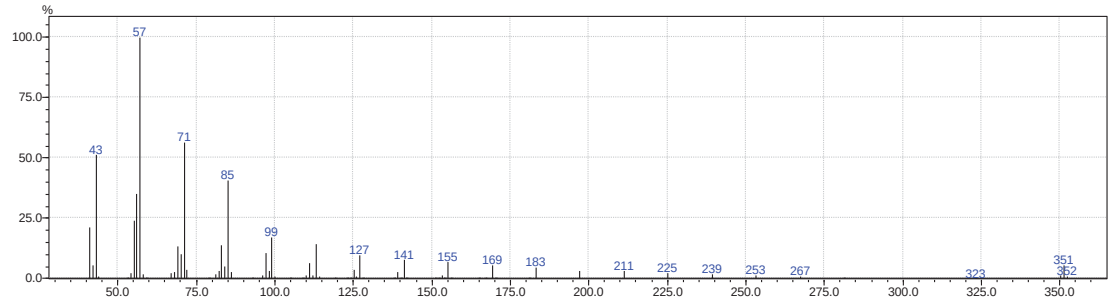
3-Metilpentacosano –Tempo de retenção: 30.64 minutos



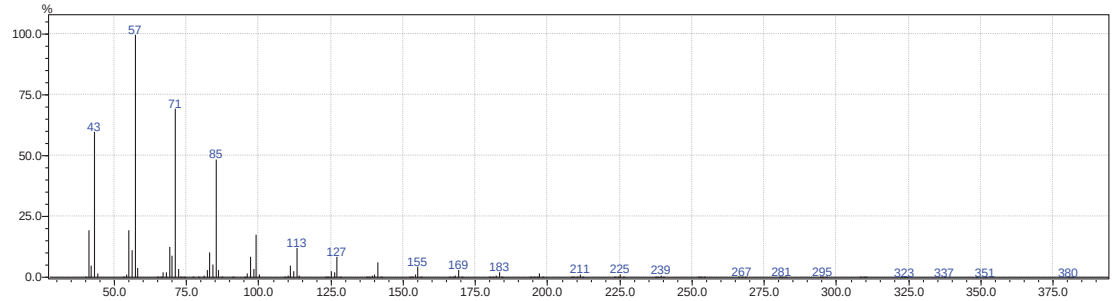
Hexacosano (C26) –Tempo de retenção: 31.30 minutos



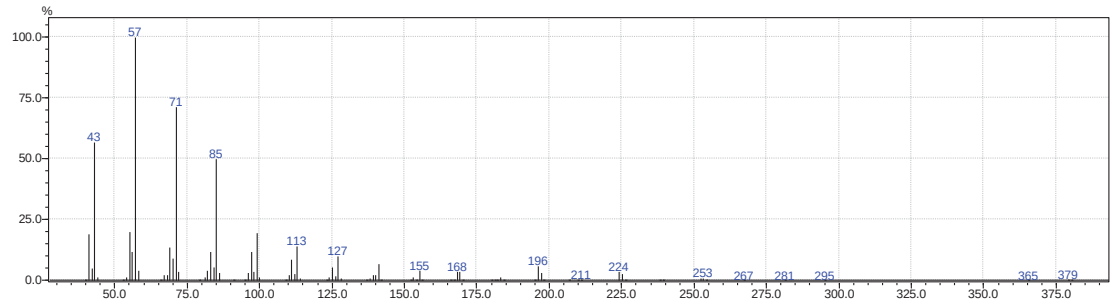
4-Metilhexacosano –Tempo de retenção: 32.71 minutos



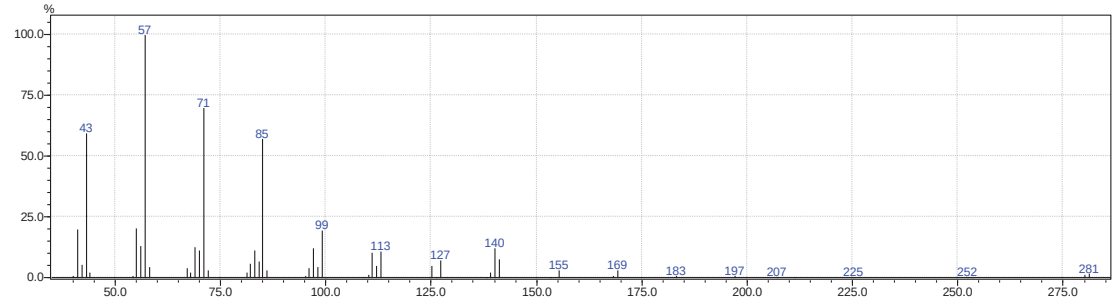
3-Metilhexacosano –Tempo de retenção: 33.09 minutos



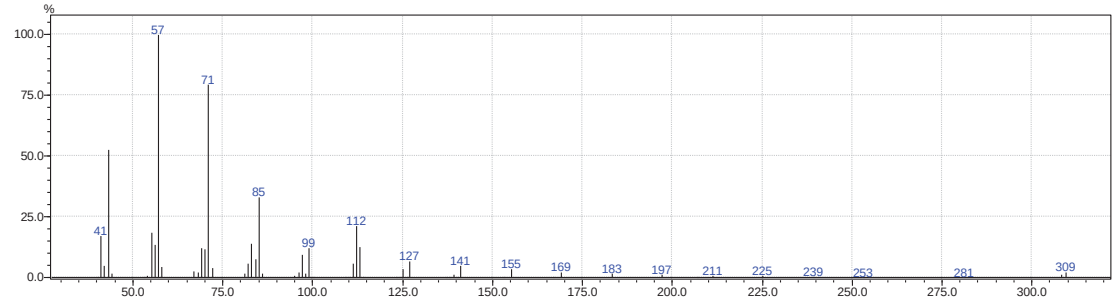
Heptacosano (C27) –Tempo de retenção: 33.78 minutos



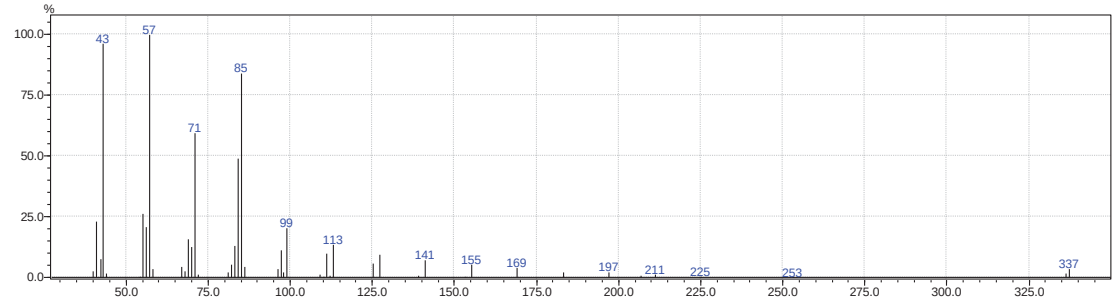
11 e 13-Metilheptacosano –Tempo de retenção: 34.50 - 34.56 minutos



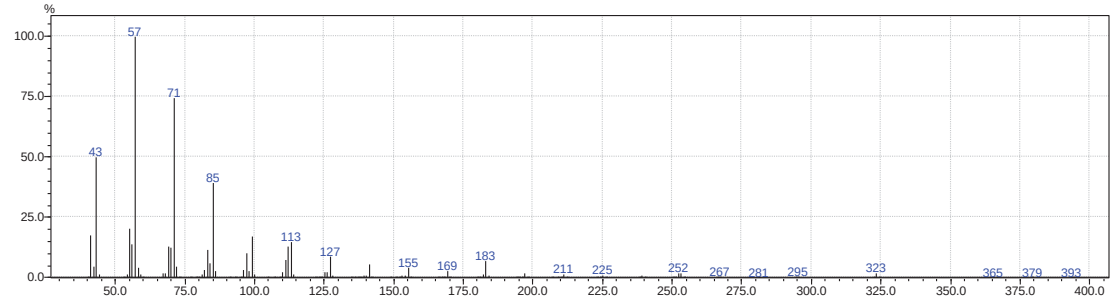
9-Metilheptacosano –Tempo de retenção: 34.59 minutos



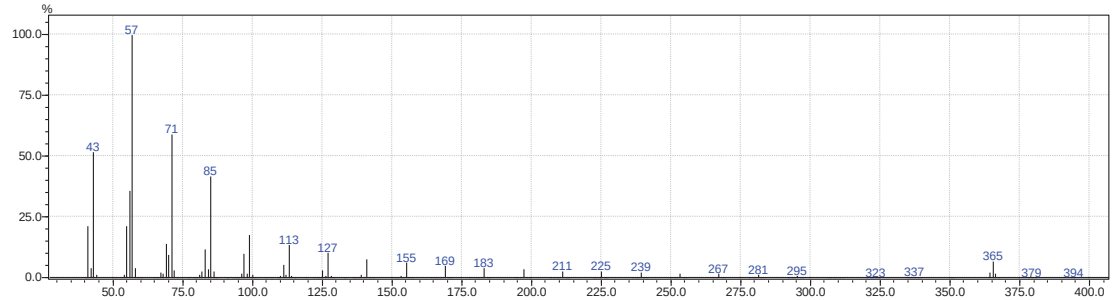
7-Metilheptacosano –Tempo de retenção: 34.70 minutos



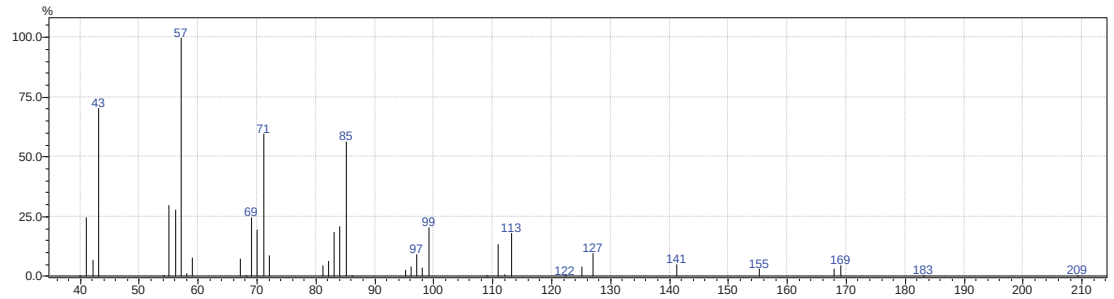
5-Metilheptacosano –Tempo de retenção: 34.93 minutos



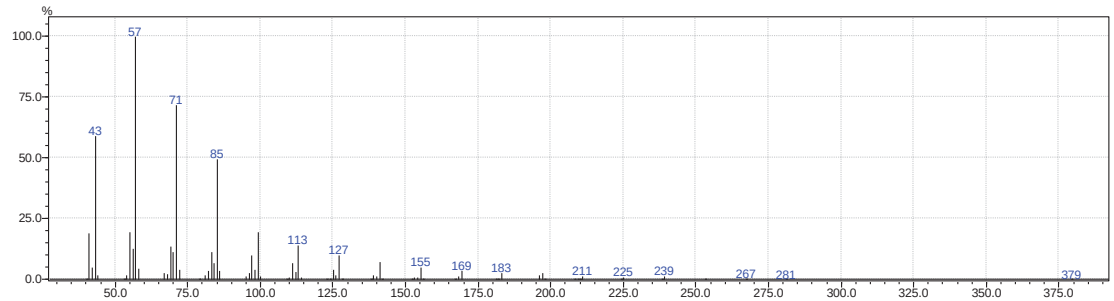
7, 16-Dimetilheptacosano –Tempo de retenção: 35.33 minutos



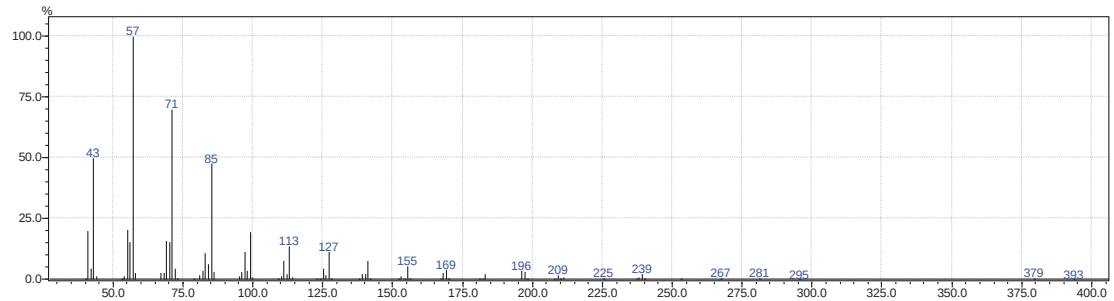
3-Metilheptacosano –Tempo de retenção: 35.51 minutos



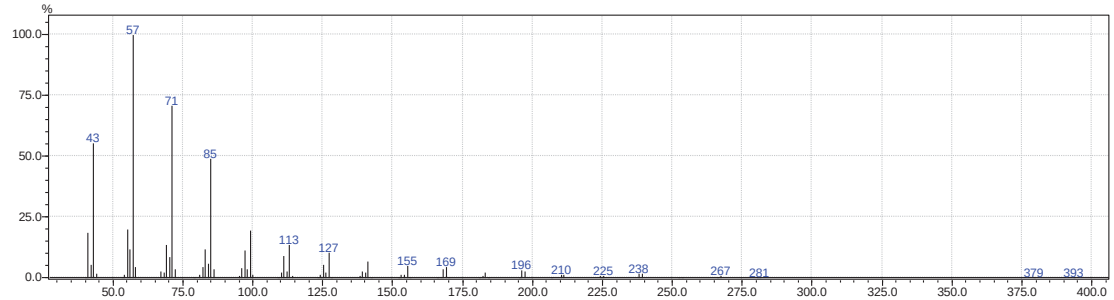
5, 17-Dimetilheptacosano –Tempo de retenção: 35.68 minutos



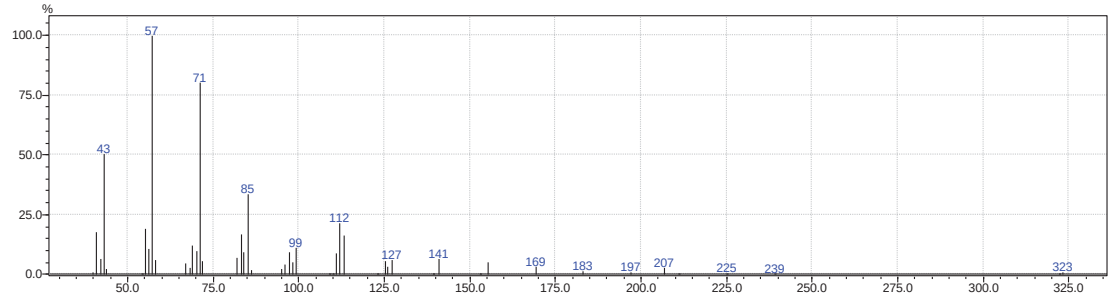
Octacosano (C28) –Tempo de retenção: 36.13 minutos



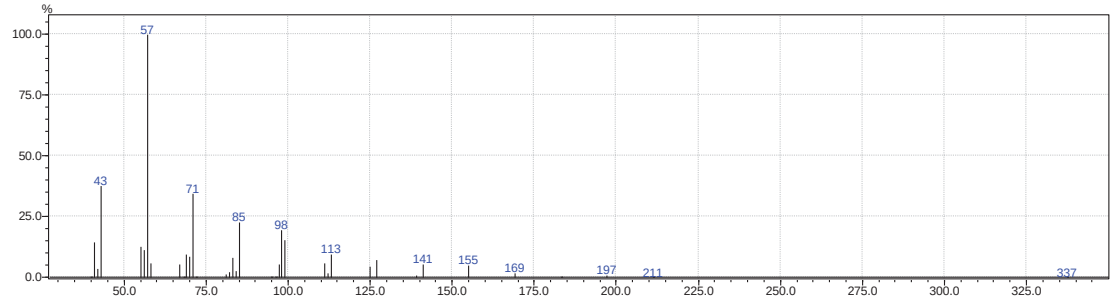
7-Etilheptacosano –Tempo de retenção: 36.20 minutos



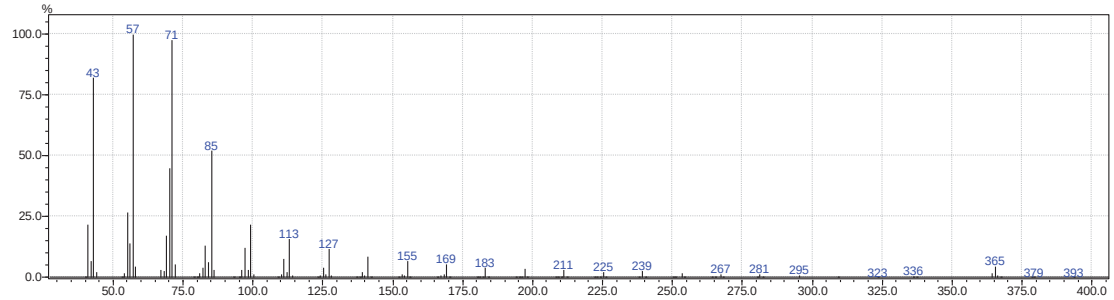
9 e 11 e 13-Metiloctacosano –Tempo de retenção: 36.78 - 36.88 minutos



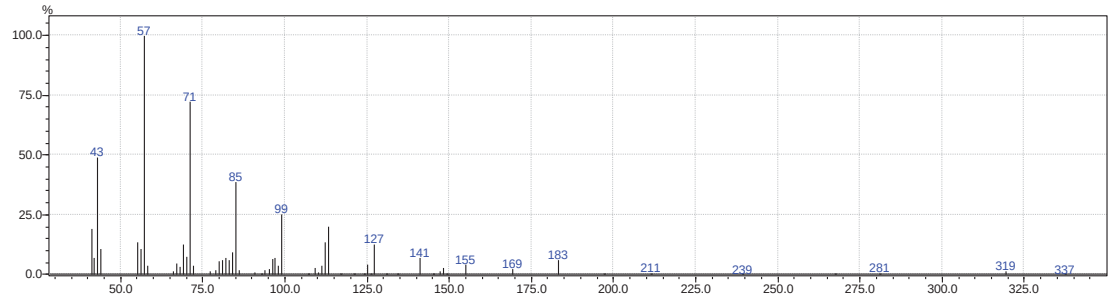
7-Metiloctacosano –Tempo de retenção: 37.01 minutos



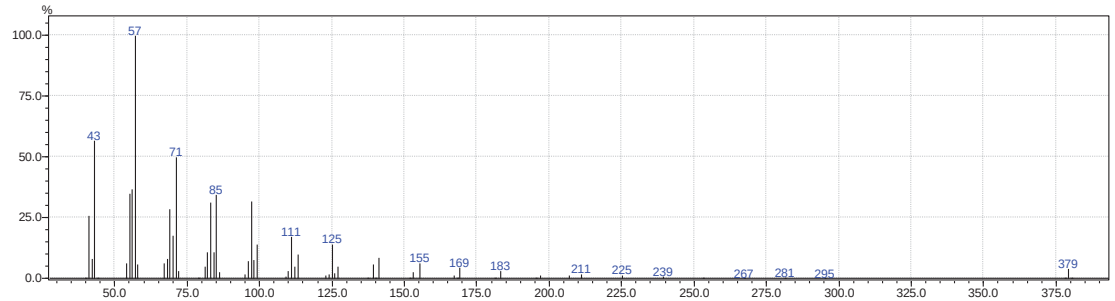
6-Metiloctacosano –Tempo de retenção: 37.12 minutos



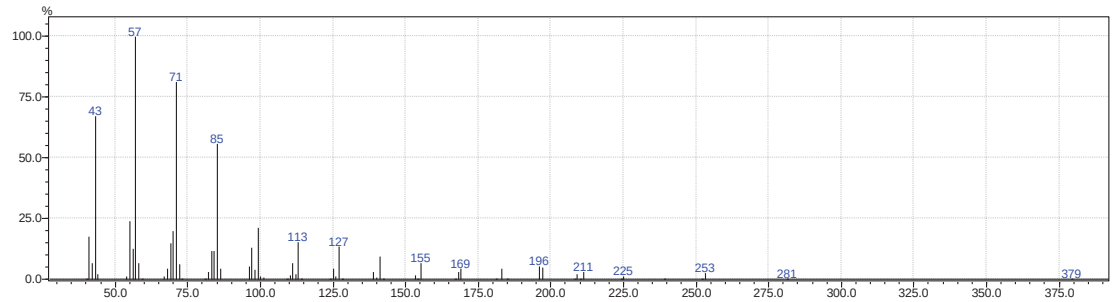
4-Metiloctacosano –Tempo de retenção: 37.41 minutos



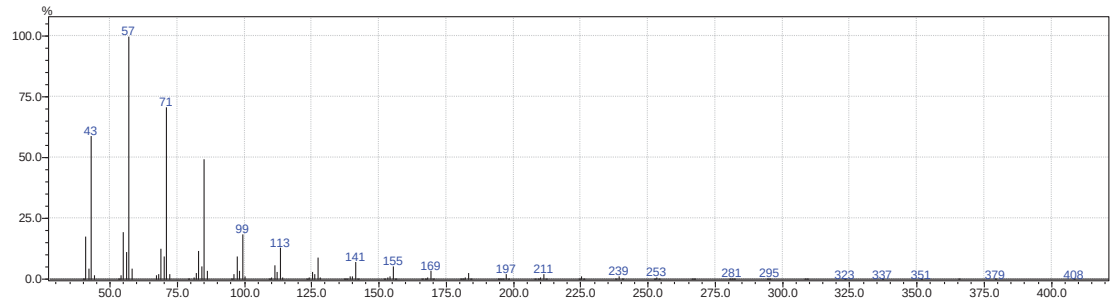
7, 17-Dimetiloctacosano –Tempo de retenção: 37.62 minutos



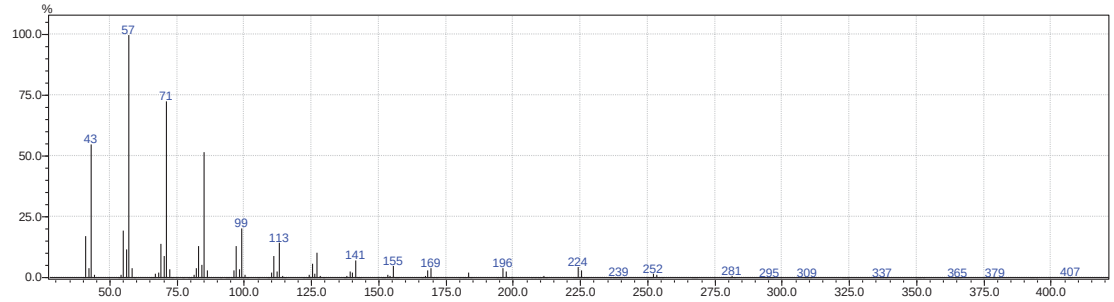
3-Metiloctacosano –Tempo de retenção: 37.78 minutos



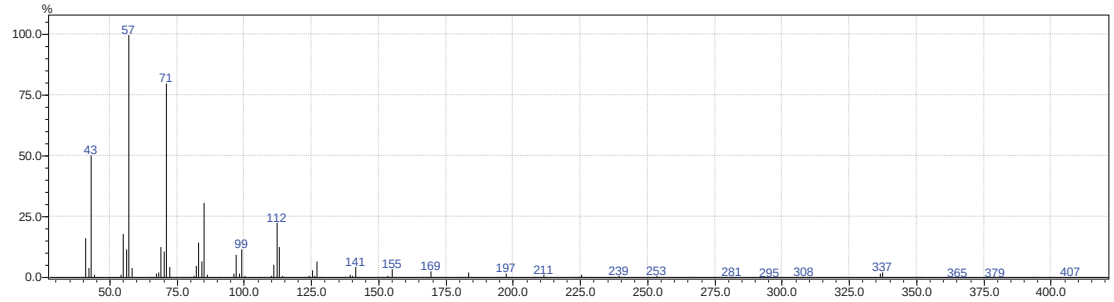
11, 16-Dimetiloctacosano –Tempo de retenção: 38.10 minutos



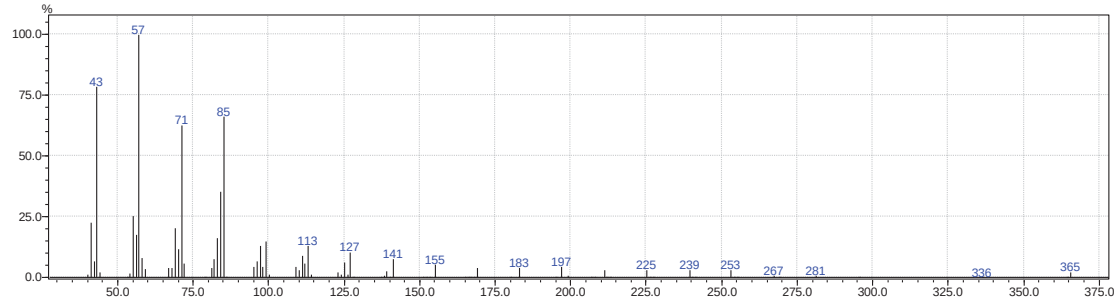
Nonacosano (C29) –Tempo de retenção: 38.40 minutos



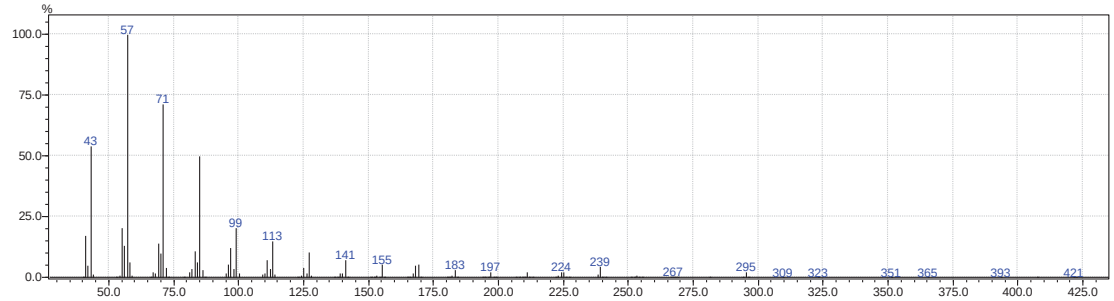
9 e 11 e 13 e 15-Metilnonacosano –Tempo de retenção: 39.07 - 39.25 minutos



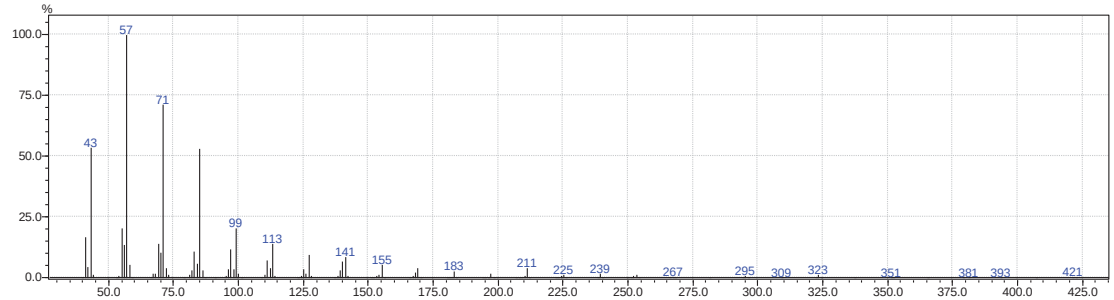
7-Metilnonacosano –Tempo de retenção: 39.32 minutos



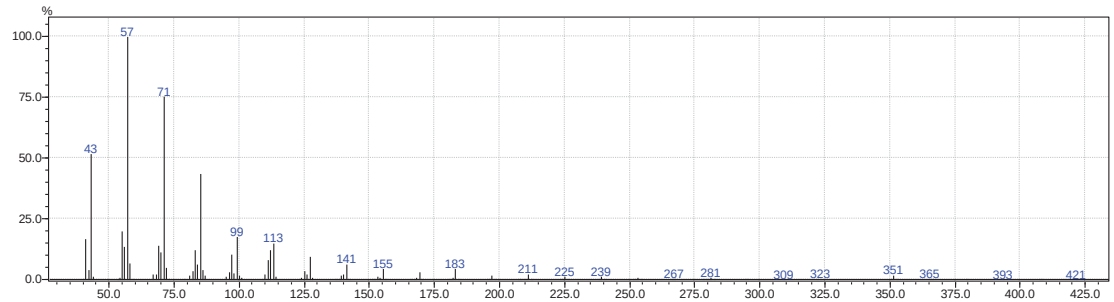
5-Metilnonacosano –Tempo de retenção: 39.50 minutos



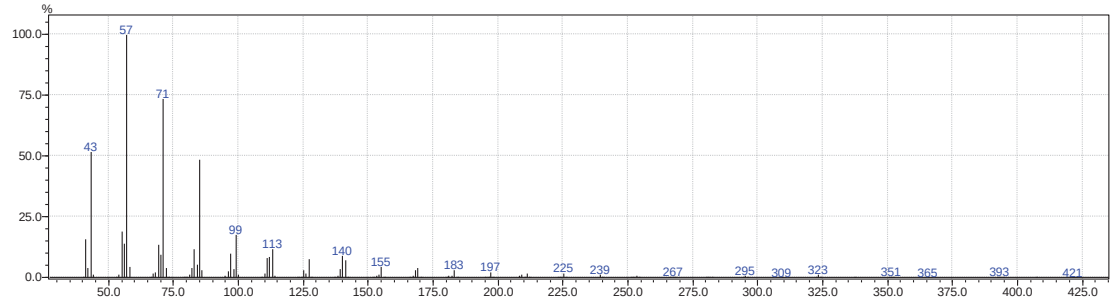
11, 15-Dimetilnonacosano –Tempo de retenção: 39.67 minutos



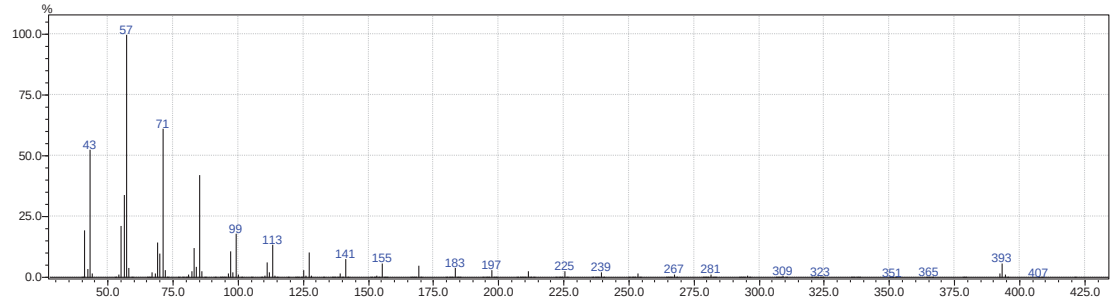
9, 15 e 9, 16-Dimetilnonacosano –Tempo de retenção: 39.71 - 39.83 minutos



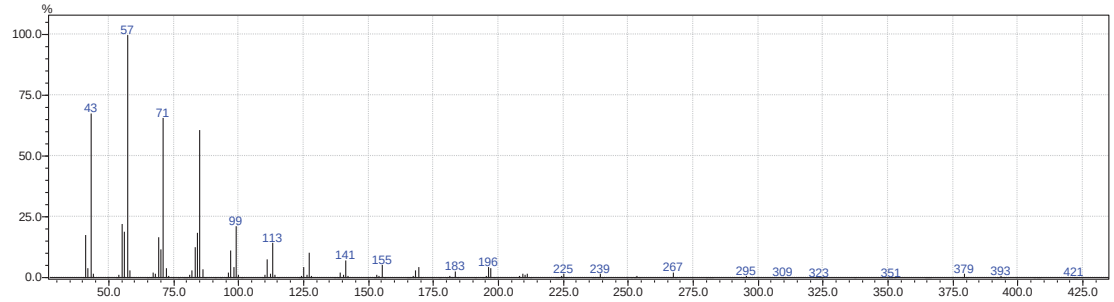
7, 15 e 7, 18-Dimetilnonacosano –Tempo de retenção: 39.87 - 39.93 minutos



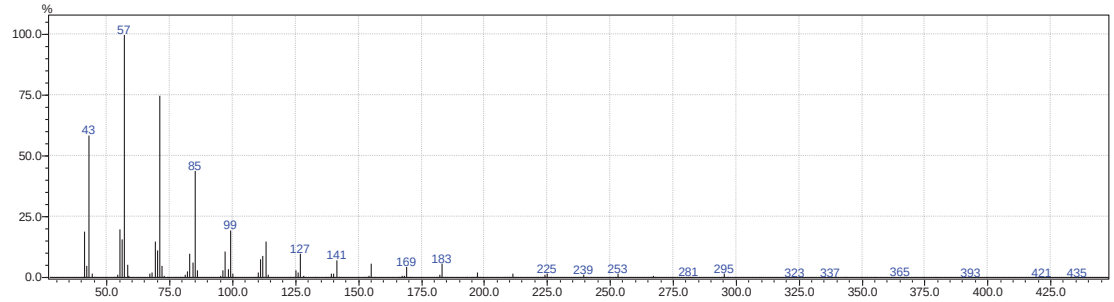
7, 21-Dimetilnonacosano –Tempo de retenção: 39.95 minutos



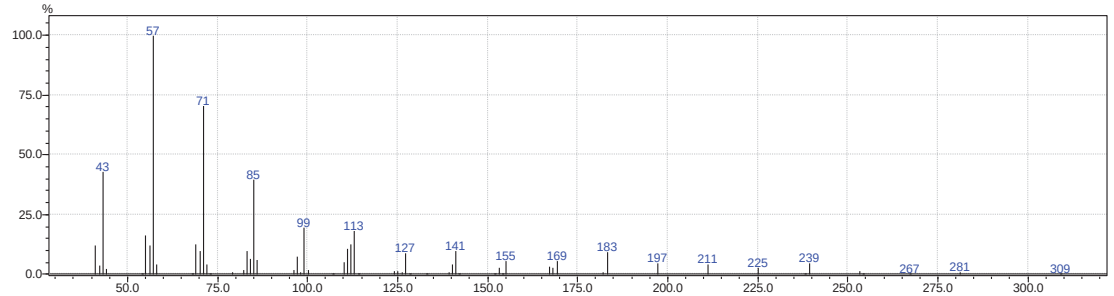
3-Metilnonacosano –Tempo de retenção: 40.06 minutos



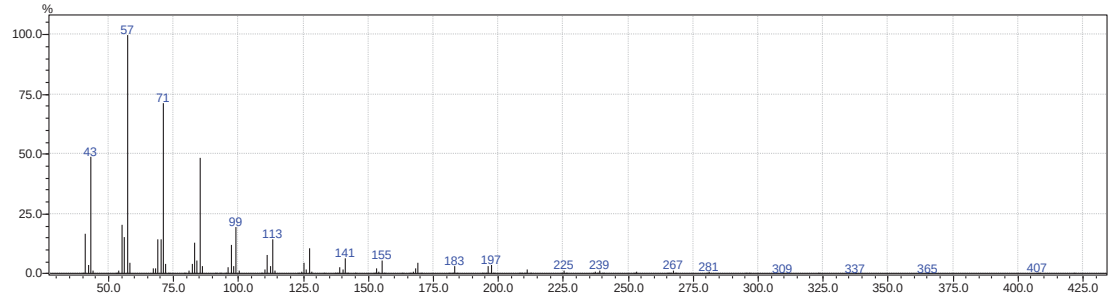
5, 17-Dimetilnonacosano –Tempo de retenção: 40.20 minutos



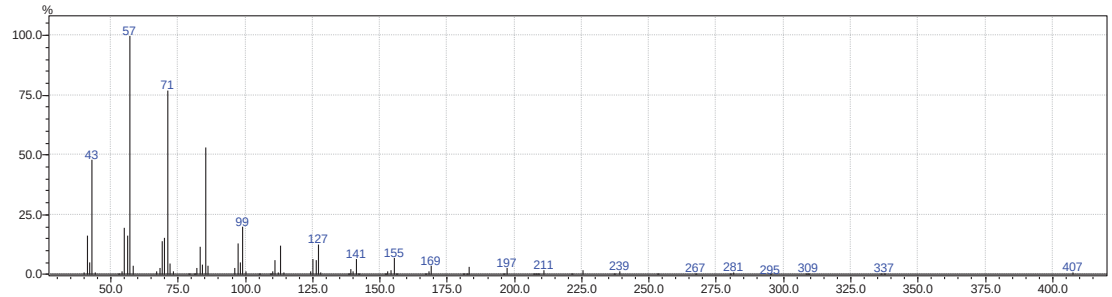
6 e 8 e 11 e 14-Etilnonacosano –Tempo de retenção: 40.35 - 40.44 minutos



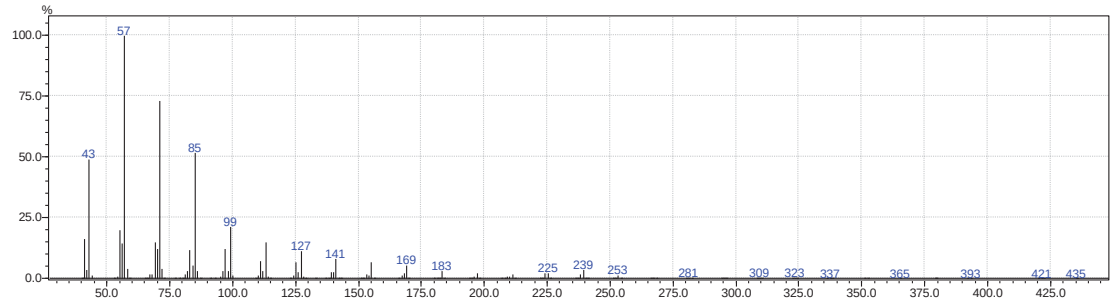
10 e 15-Etilnonacosano –Tempo de retenção: 40.48 - 40.50 minutos



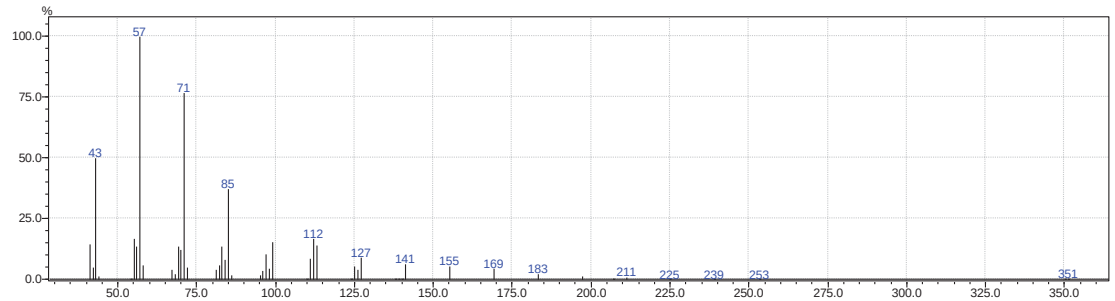
13, 15-Dimetilnonacosano –Tempo de retenção: 40.59 - 40.70 minutos



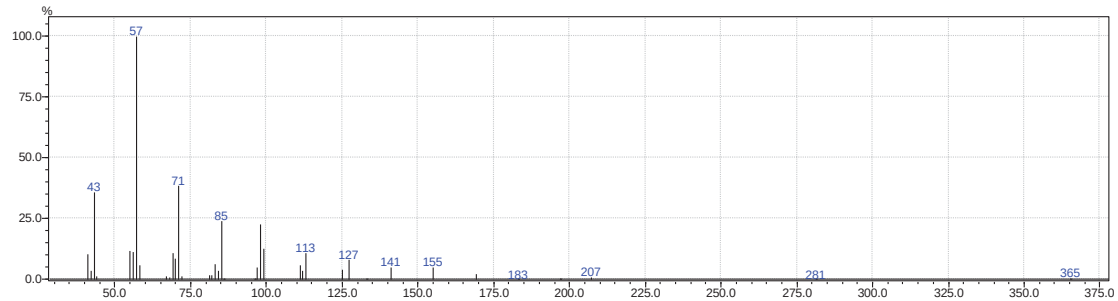
8, x-Dimetilnonacosano –Tempo de retenção: 40.71 minutos



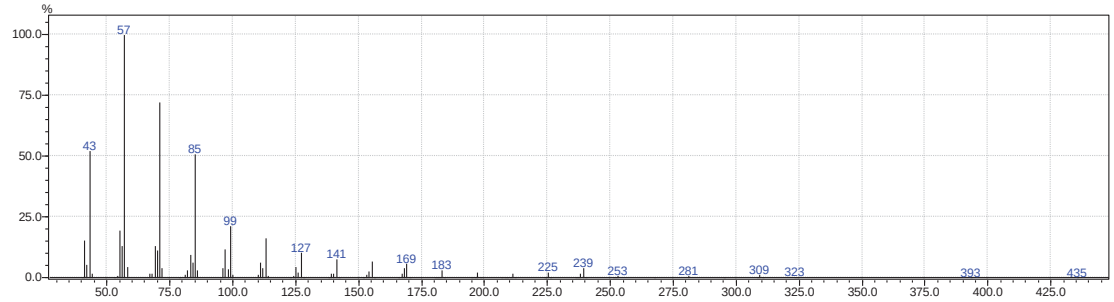
11 e 13 e 14 e 15-Metiltriacontano –Tempo de retenção: 41.24 - 41.35 minutos



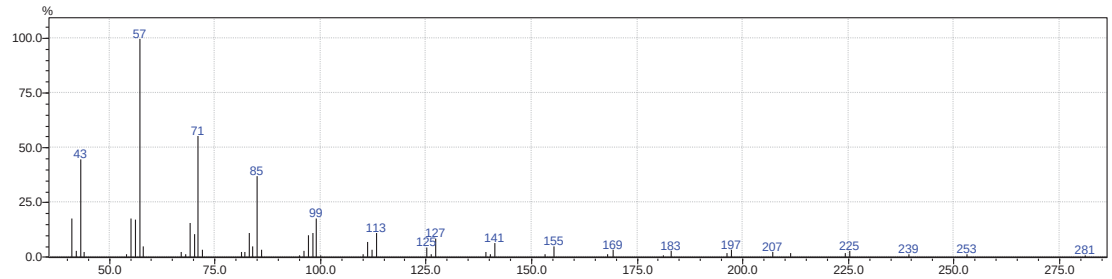
7-Metiltriacontano –Tempo de retenção: 41.48 minutos



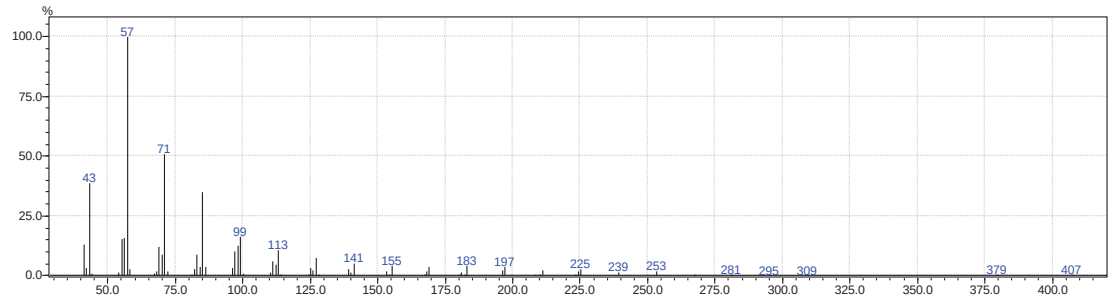
6-Metiltriacontano –Tempo de retenção: 41.54 minutos



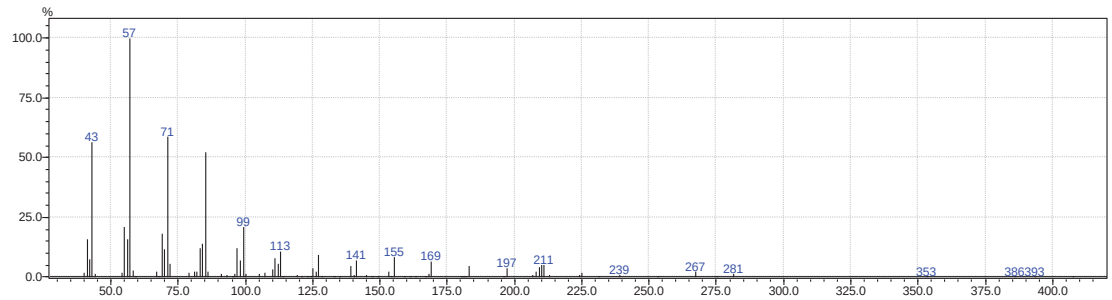
11, 15-Dimetiltriacontano –Tempo de retenção: 41.79 minutos



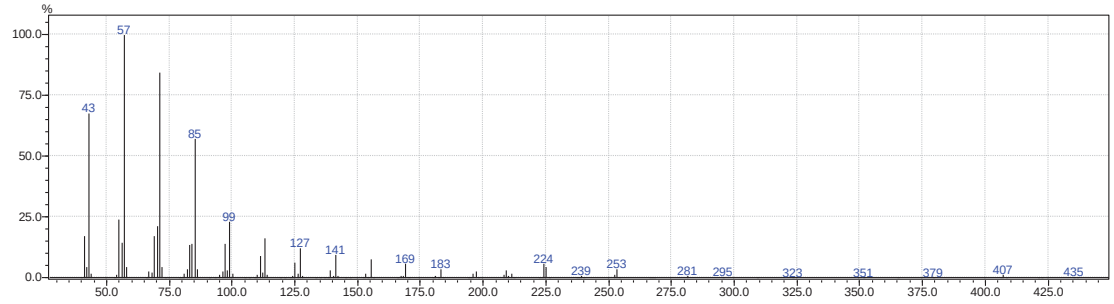
3-Metiltriacontano –Tempo de retenção: 42.05 minutos



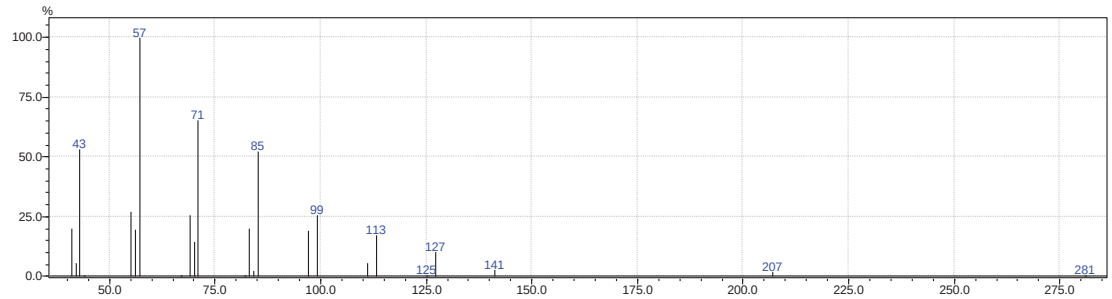
6, 16-Dimetiltriacontano –Tempo de retenção: 42.16 minutos



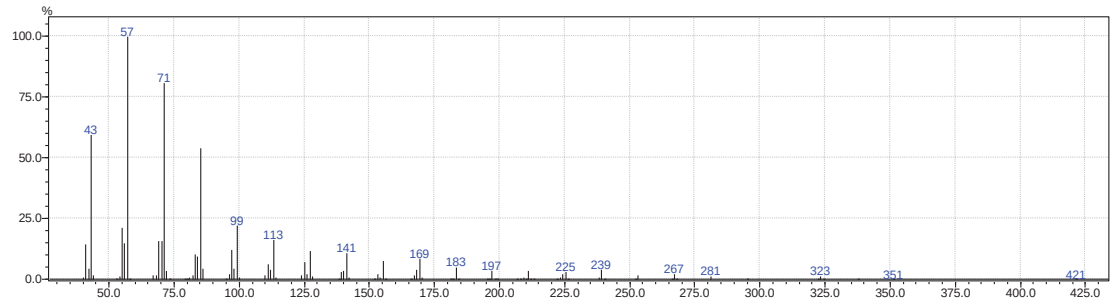
13, 17-Dimetiltriacontano –Tempo de retenção: 42.28 minutos



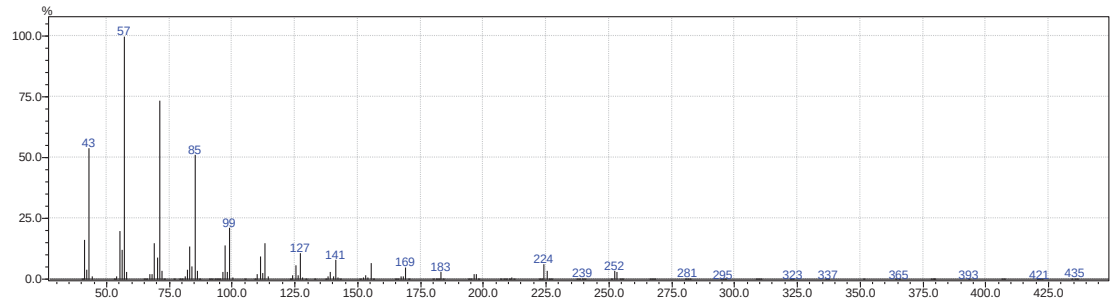
4, 16-Dimetiltriacontano –Tempo de retenção: 42.44 minutos



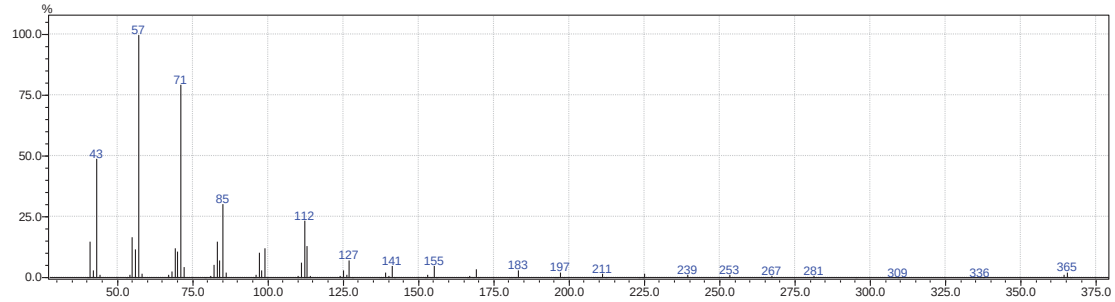
Hentriacontano (C31) –Tempo de retenção: 42.77 minutos



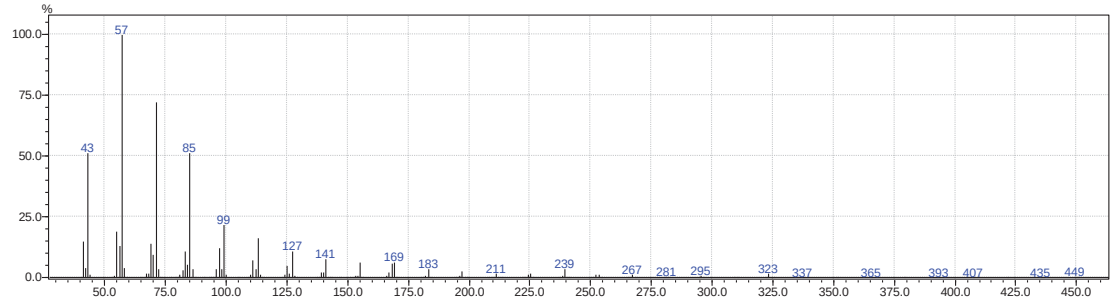
8 e 10 e 14-Etiltriacontano –Tempo de retenção: 42.96 - 43.09 minutos



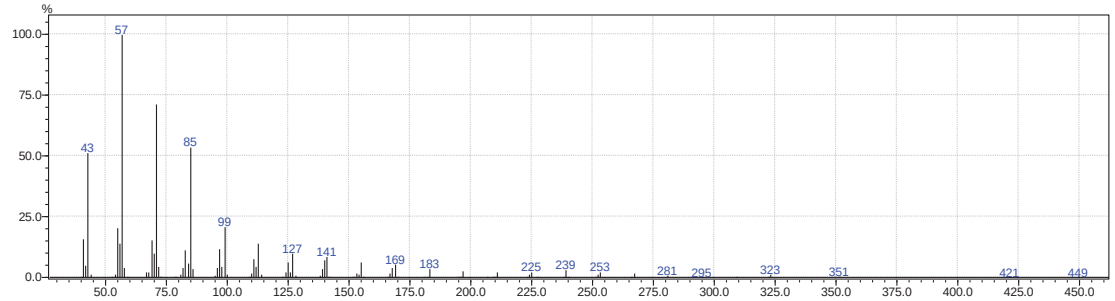
9 e 11 e 13 e 15-Metilhentriacontano –Tempo de retenção: 43.37 minutos



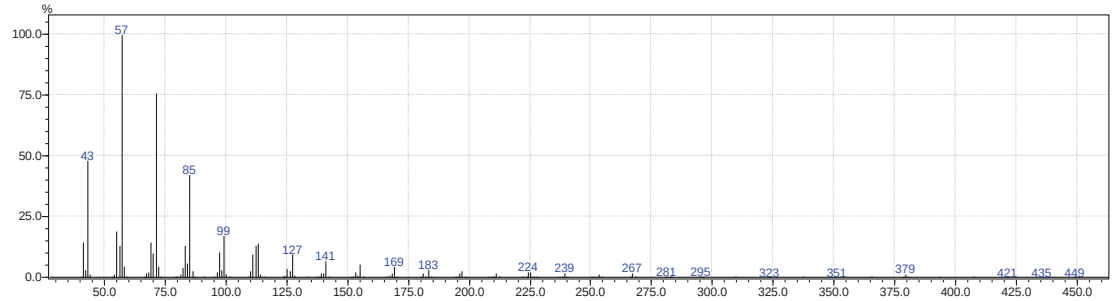
7-Metilhentriacontano –Tempo de retenção: 43.59 minutos



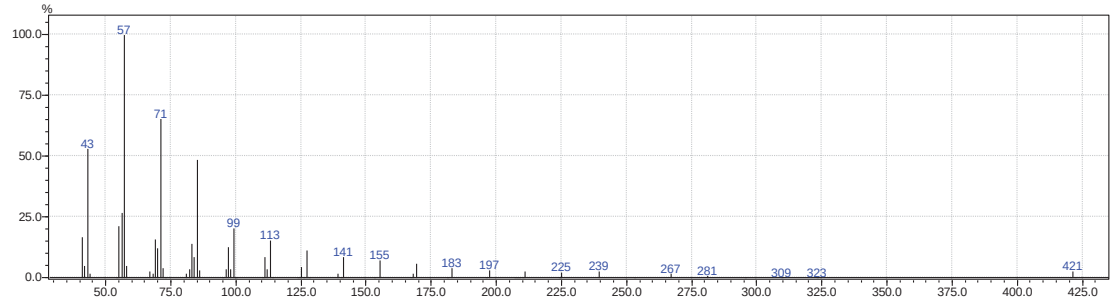
11, 16-Dimetilhentriacontano –Tempo de retenção: 43.95 minutos



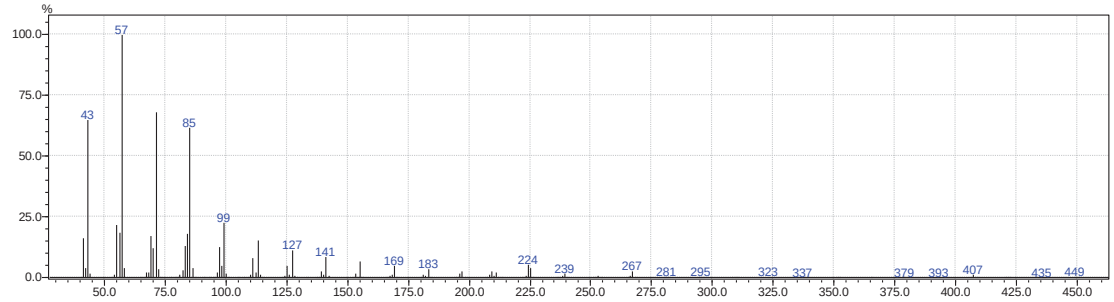
9, 21-Dimetilhentriacontano –Tempo de retenção: 44.10 minutos



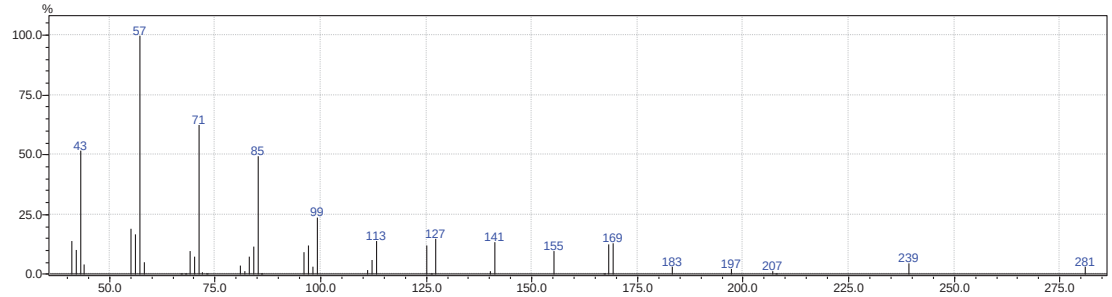
7, 19 e 7, 16-Dimetilhentriacontano –Tempo de retenção: 44.16 - 44.25 minutos



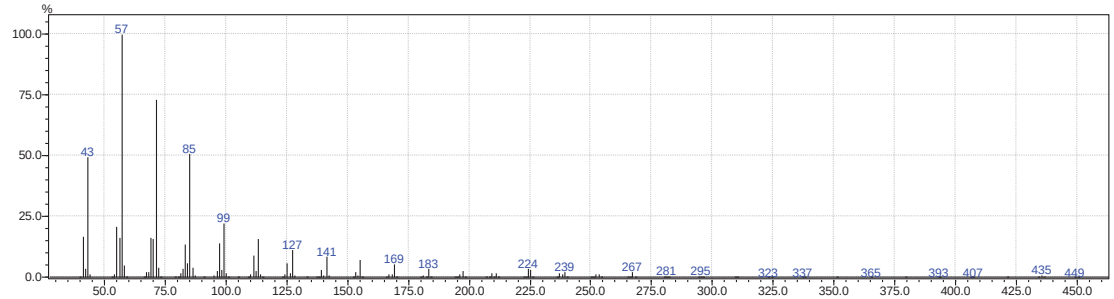
3-Metilhentriacontano –Tempo de retenção: 44.34 minutos



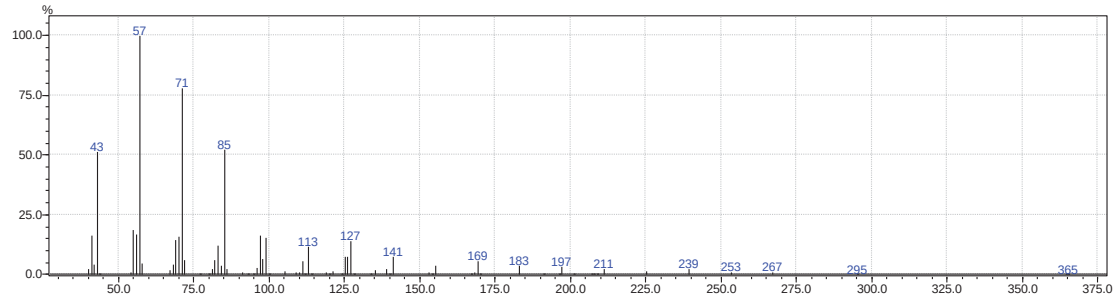
5, 17-Dimetilhentriacontano –Tempo de retenção: 44.42 minutos



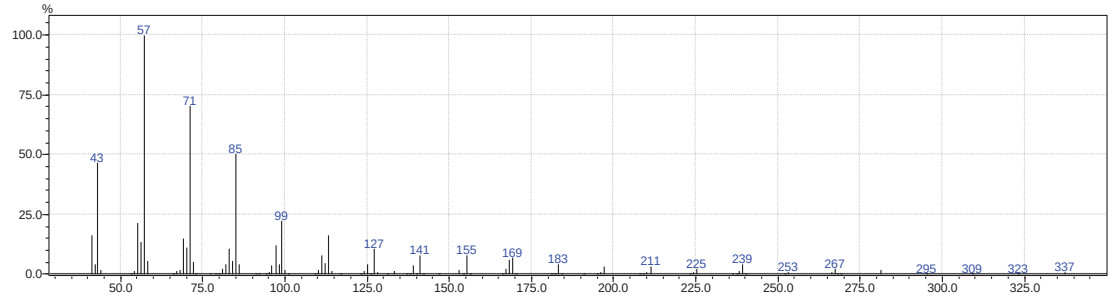
10 e 15-Etilhentriacontano –Tempo de retenção: 44.51 - 44.88 minutos



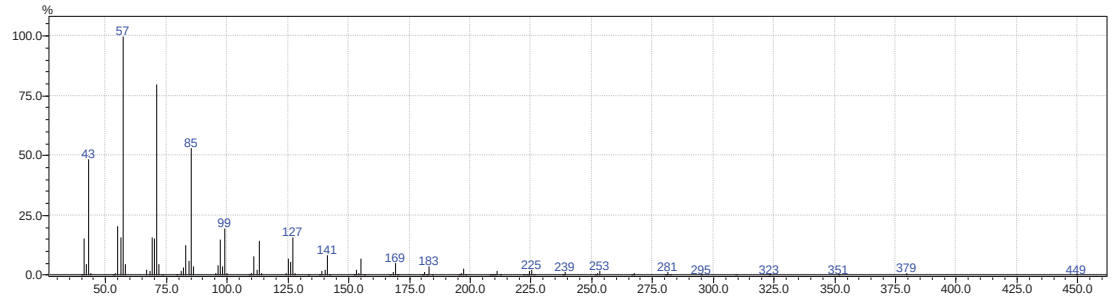
15, 16-Dimetilhentriacontano –Tempo de retenção: 45.00 minutos



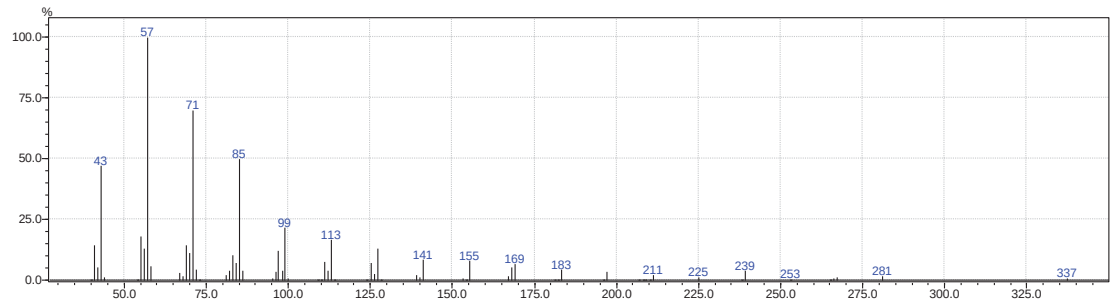
8-Metildotriacontano –Tempo de retenção: 45.15 minutos



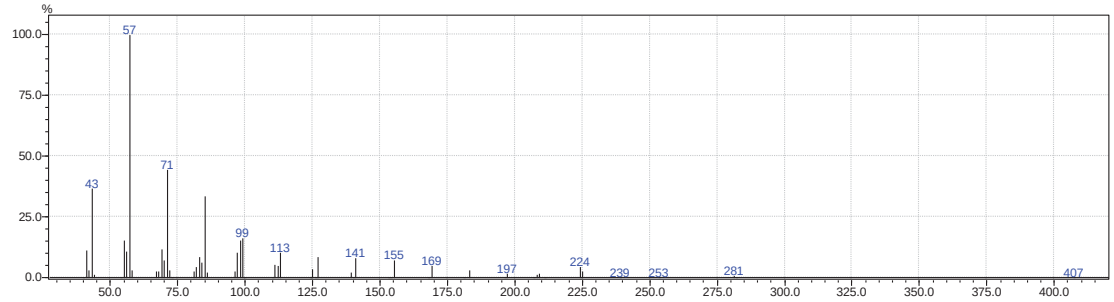
15, 16 e 15, 17-Dimetildotriacontano –Tempo de retenção: 45.60 - 45.72 minutos



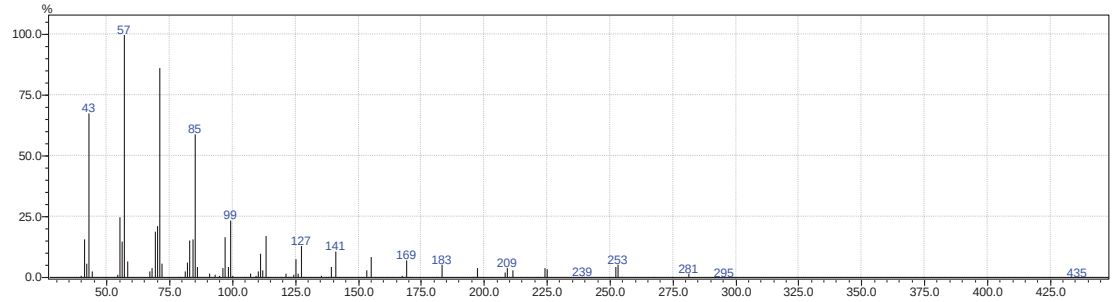
8, 16 e 8, 18-Dimetildotriacontano –Tempo de retenção: 45.77 minutos



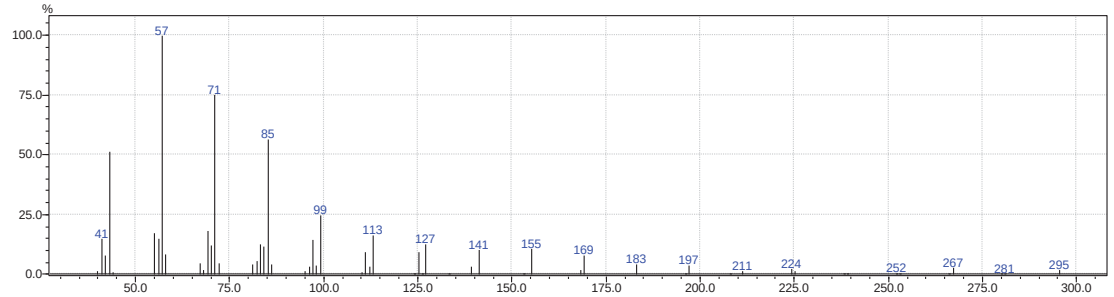
11, 17-Dimetildotriacontano –Tempo de retenção: 46.26 minutos



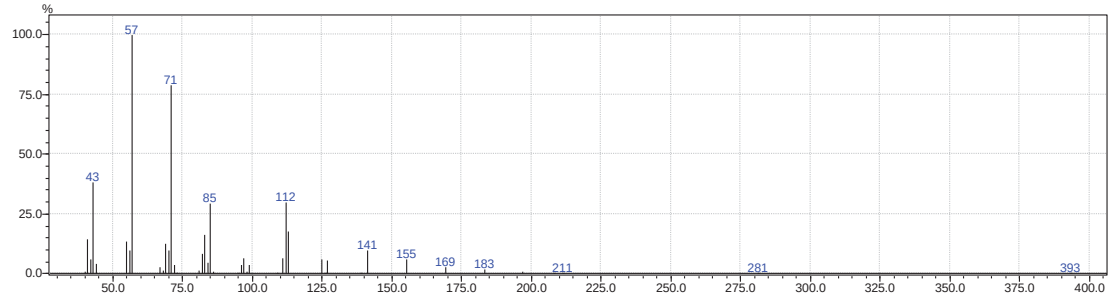
6, 18-Dimetildotriacontano –Tempo de retenção: 46.69 minutos



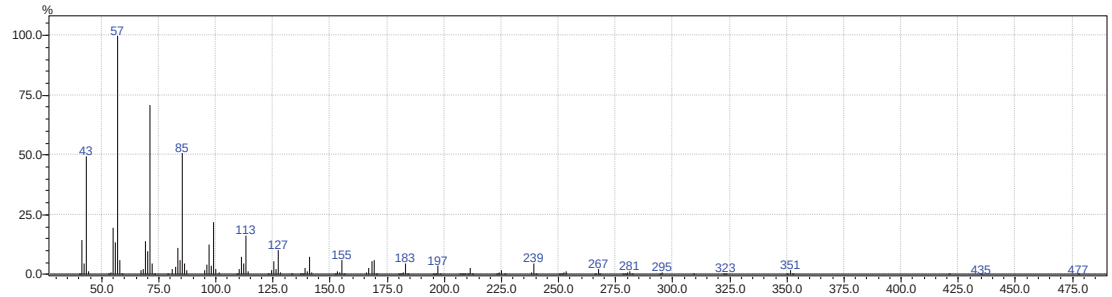
4, 16-Dimetildotriacontano –Tempo de retenção: 47.07 minutos



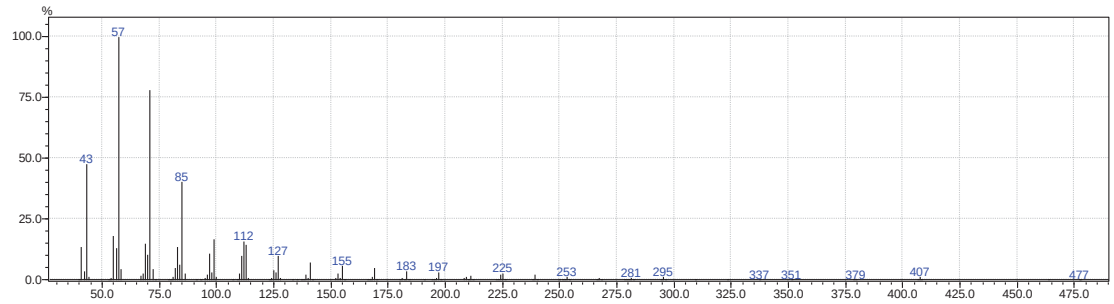
11, 17 e 15, 17-Dimetiltritriacontano –Tempo de retenção: 48.33 - 48.41 minutos



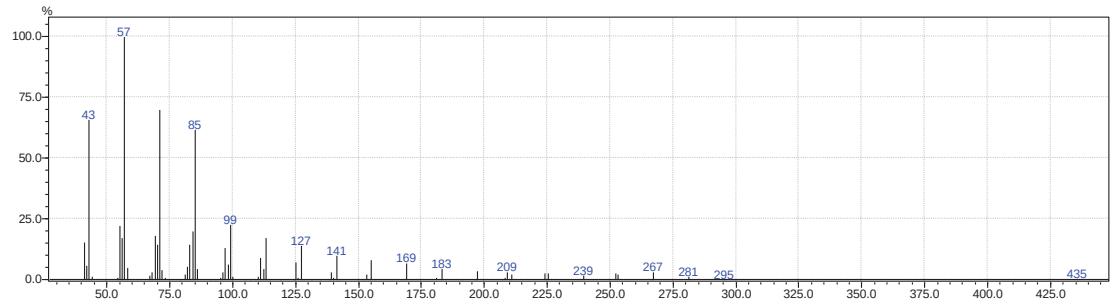
7-Metiltritriacontano –Tempo de retenção: 48.75 minutos



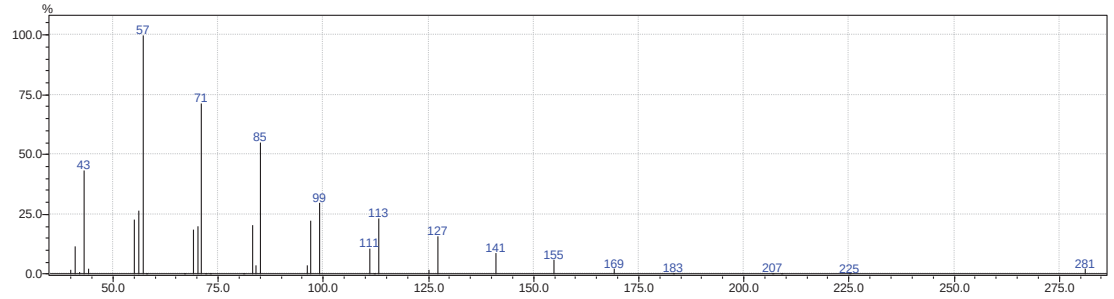
11, 18 e 15, 18-Dimetiltritriacontano –Tempo de retenção: 49.12 - 49.45 minutos



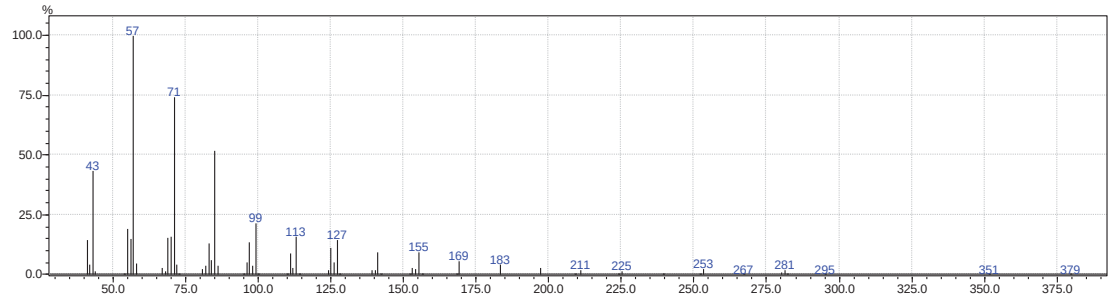
7, 18 e 7, 19-Dimetiltritriacontano –Tempo de retenção: 49.55 - 49.66 minutos



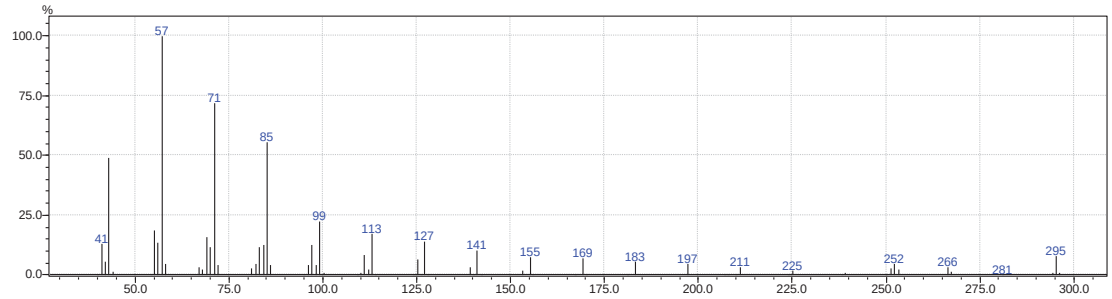
5, 17-Dimetiltritriacontano –Tempo de retenção: 49.91 minutos



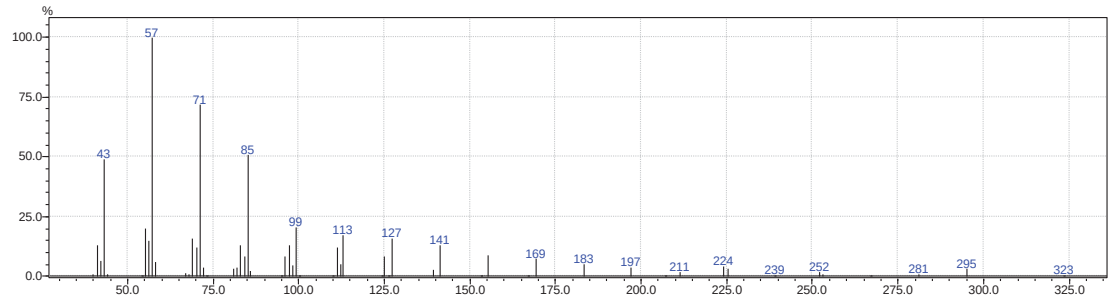
Tetratriacontano (C34) –Tempo de retenção: 51.60 minutos



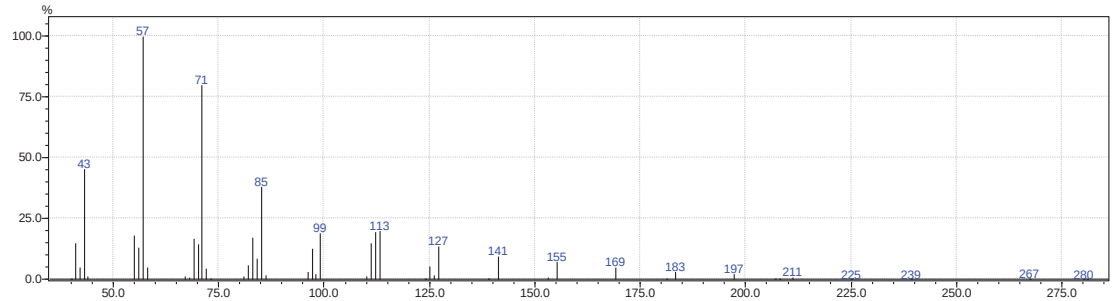
8, 18 e 10, 18-Dimetiltetratriacontano –Tempo de retenção: 51.84 minutos



16-Etiltetratriacontano –Tempo de retenção: 55.51 minutos



14-Etiltetratriacontano –Tempo de retenção: 56.88 minutos



6-Etiltetratriacontano –Tempo de retenção: 57.71 minutos