

**VARIAÇÃO MORFOFISIOLOGICA DAS CASTAS DA VESPA ENXAMEANTE
NEOTROPICAL *Polybia (Trichothorax) ignobilis* DURANTE SUA ONTOGENIA
COLONIAL (HYMENOPTERA, VESPIDAE, EPIPONINI).**

IVAN CESAR DESUÓ

Orientadora: Profa. Dra.SULENE NORIKO SHIMA

**Dissertação apresentada ao Instituto
de Biociências do Câmpus de Rio
Claro, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre em
Ciências Biológicas, Área de
Concentração de Zoologia.**

**Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
Setembro - 2008**

Ao meu amado pai (*in memorium*)

Um grande amigo e incentivador

...Saudades...

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à DEUS.

Agradeço minha orientadora Profa. Dra. Sulene Noriko Shima pela orientação, compreensão amizade e confiança. Além de ser uma excelente pesquisadora é também uma pessoa muito honesta, justa e ética, alguém a quem tenho muita admiração e amizade.

Agradeço meus professores da graduação e da pós-graduação, em especial ao Beto, Cláudio, Zezé e Chaud. Pois, além de serem ótimos professores são também muito divertidos.

Agradeço à todo o pessoal do Departamento de Zoologia por sempre estarem prontos à ajudar. Em especial gostaria de agradecer ao Fernandão por proporcionar divertidas conversas, à Cris e à Cinara, sempre muito atenciosas e prestativas. Ao Jaime, um grande artista que transforma nossos rabiscos em obra de arte.

Ao Prof. Dr. Sidnei Mateus, por ceder algumas colônias para a análise e pelas sugestões e críticas sempre construtivas.

Ao pessoal da Biblioteca, em especial à Suzy e à Gi, meus anjos da guarda da biblioteca.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

Aos meus queridos amigos de longa data, Guilherme e Sunao pelo companheirismo e amizade sincera, sempre juntos nos bons e maus momentos. Fico feliz de poder contar com vocês!!! Gostaria também de agradecer minhas amigas Lye, Gleí, Grá, Iracema e meus amigos Rodrigo, Bibi e Akio pelo carinho e amizade.

Ao meu amigo Ricardo (Kurko) pela amizade sincera e por ser o único que ainda se lembra de mim em Piracicaba, apesar de, às vezes, eu não merecer. Um grande abraço e para você Boa Sorte!!

Ao meu amigo Leo Gomes a quem admiro muito como pesquisador e também como pessoa. Uma pessoa de muita força e talento, que passou por momentos difíceis (E INJUSTOS!), mas deu a volta por cima com muita coragem e hombridade.

Meus companheiros de trabalho, Vanessa, Sílvia, Vanderlei e Sunao, por compartilharem as dificuldades de se fazer ciência no Brasil.

À minha querida e amada namorada Vanessa, por me animar quando estou triste, por me aconselhar quando estou confuso, por ajudar a me tornar uma pessoa melhor. Quero que saiba que você é muito importante para mim, que preciso de muito de você e que sou muito feliz por você fazer parte de minha vida. Obrigado por tudo. Te amo.

Gostaria de agradecer minha amada família, minha mãe Sandra e meu irmão Carlos. Por tudo que consegui até hoje por terem me dado a oportunidade de realizar este trabalho, por tudo que passamos juntos, as tristezas e as alegrias. Por sempre me apoiarem a continuar meus estudos, apesar de muitos acharem uma bobagem. Nunca poderei agradecer a esse apoio irrestrito e me sinto abençoado por ter uma família assim. Obrigado por tudo, amo muito vocês dois!!!!

Por fim, gostaria de agradecer meu pai, que apesar de infelizmente já não estar mais entre nós, me deixou muitos legados inestimáveis, como a honestidade, a humildade e o amor. Pai, você me deixou as únicas coisas que ninguém poderá nunca tirar de mim, meus ideais e valores e por isso sou eternamente grato à você. Sempre te amarei.

ÍNDICE

VARIAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DAS CASTAS DA VESPA ENXAMEANTE NEOTROPICAL <i>Polybia (Trichothorax) ignobilis</i> DURANTE SUA ONTOGENIA COLONIAL (HYMENOPTERA, VESPIDAE, EPIPONINI).....	1
Resumo.....	1
Abstract.....	2
1. Introdução	4
1.1 Aspectos Gerais da Família Vespidae	4
1.2 As definições de Castas.....	6
1.3 Diferenciação de castas e variabilidade nos Polistinae.....	8
1.4 Ciclos coloniais nos Epiponini	13
2. Objetivos.....	16
3. Materiais e Métodos	17
3.1 Estudos Morfométricos	17
3.2 Estudo da morfologia interna.....	19
3.2.1 Desenvolvimento ovariano e inseminação.....	19
3.2.2 Quantidade relativa de tecido adiposo.....	19
3.2.3 Presença ou ausência da glândula de Richards	19
3.2.4 Idade relativa.....	20
3.3 Análises estatísticas	20
4. Resultados e Discussão	22
4.1 Aspectos gerais das colônias analisadas	22
4.2 Desenvolvimento ovariano e inseminação	24
4.3 Idade Relativa e Tecido Gorduroso	35
4.4 Análises Morfométricas das colônias analisadas.....	42
5. Conclusões	66
6. Referências Bibliográficas	67

**VARIAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DAS CASTAS DA VESPA ENXAMEANTE
NEOTROPICAL *Polybia (Trichothorax) ignobilis* DURANTE SUA ONTOGENIA
COLONIAL (HYMENOPTERA, VESPIDAE, EPIPONINI).**

Resumo

A família Vespidae é um grupo chave para o entendimento da origem do comportamento social nos Hymenoptera, pois inclui desde espécies solitárias que não apresentam qualquer grau de socialidade até espécies que são altamente sociais como os Epiponini (Hymenoptera:Vespidae). A separação em castas é uma das pedras fundamentais da evolução dos insetos sociais, pois a presença de uma grande diferenciação entre as castas indica um maior grau de socialidade. Neste contexto, as vespas neotropicais pertencentes à tribo Epiponini despertam grande interesse em estudos de evolução de castas, pois além de apresentarem colônias poligínicas pode se observar um grande espectro de variação ocorrendo desde espécies com castas morfológicamente incipientes até distintas. Além disso, para uma dada espécie, o perfil de diferenciação morfológica entre as castas pode variar ao longo do ciclo colonial, evidenciando uma grande flexibilidade adaptativa frente às diferentes situações enfrentadas pela colônia ao longo de seu desenvolvimento. Diferenças morfofisiológicas entre as castas de 6 colônias em diferentes fases do desenvolvimento colonial de *Polybia (Trychothorax) ignobilis* foram analisadas. Para determinar as diferenças morfológicas entre as castas, foram medidas 13 variáveis corporais externas provenientes da cabeça, mesossoma, metassoma e asa. Os ovários foram fotografados e esquematizados, a inseminação, idade relativa, a quantidade de tecido gorduroso e a condição morfológica da glândula de Richards foram analisadas. As fêmeas apresentaram uma sequência gradual no padrão de desenvolvimento ovariano, desde ovariolos filamentosos sem a presença de oócitos até

ovariolos bem desenvolvidos com oócitos maduros de tamanho suficiente para a postura, foi verificada a presença de intermediárias que apresentaram ovários com ovariolos ligeiramente alargados com oócitos em fase final de vitelogênese em todas as fases analisadas. Os resultados da ANOVA mostraram que as rainhas foram maiores que as operárias e intermediárias em todas as fases analisadas. As operárias e intermediárias mostraram alguma assimetria nas estatísticas univariadas, contudo, as análises multivariadas revelaram similaridade entre essas duas categorias de fêmeas e, dessa forma, as intermediárias representam operárias com certo grau de desenvolvimento ovariano. Além disso, as análises estatísticas multivariadas mostraram evidências de um padrão ao longo do ciclo colonial no qual a distância morfológica entre rainhas e operárias tende a aumentar enquanto o ciclo progride. Os resultados sugerem a existência de um forte componente alométrico envolvido na diferenciação entre rainhas e operárias nesta espécie de vespa, e dessa forma, a diferenciação de castas ocorreria durante o período pré-imaginal.

Palavras-chave: Hymenoptera, castas, Epiponini, diferenciação de castas, diferenciação morfológica, Vespidae, vespas.

Abstract

The Vespidae family is a key group in evolutionary studies of sociality in Hymenoptera due to the occurrence of every step of social organization including species whose do not present any degree of sociality until those which are highly social, such as the Epiponini (Hymenopter: Vespidae). The separation into castes is one of the most important features of social insects and the presence of a higher level of caste differentiation indicates a well defined reproductive division of labor and consequently a higher degree of sociality. Morphological studies of caste differentiation in Neotropical social wasps concentrate mainly in the Epiponini tribe, once it's ecologically abundant in Neotropics and presents a wide spectrum of variability of caste systems ranging from species with a slightly caste differentiation to those with conspicuous body differences. Besides, patterns of caste differentiation may vary according the colony cycle mainly in response to environmental changes which may affect the colony dynamics. Morphological and physiological differences between castes of 6 colonies of *Polybia (Trychothorax) ignobilis* were analyzed. Measurements were taken from 13 morphometric variables regarding the head, metasoma, mesosoma and wing. Ovarian development, relative age, fat body and the status of Richard's

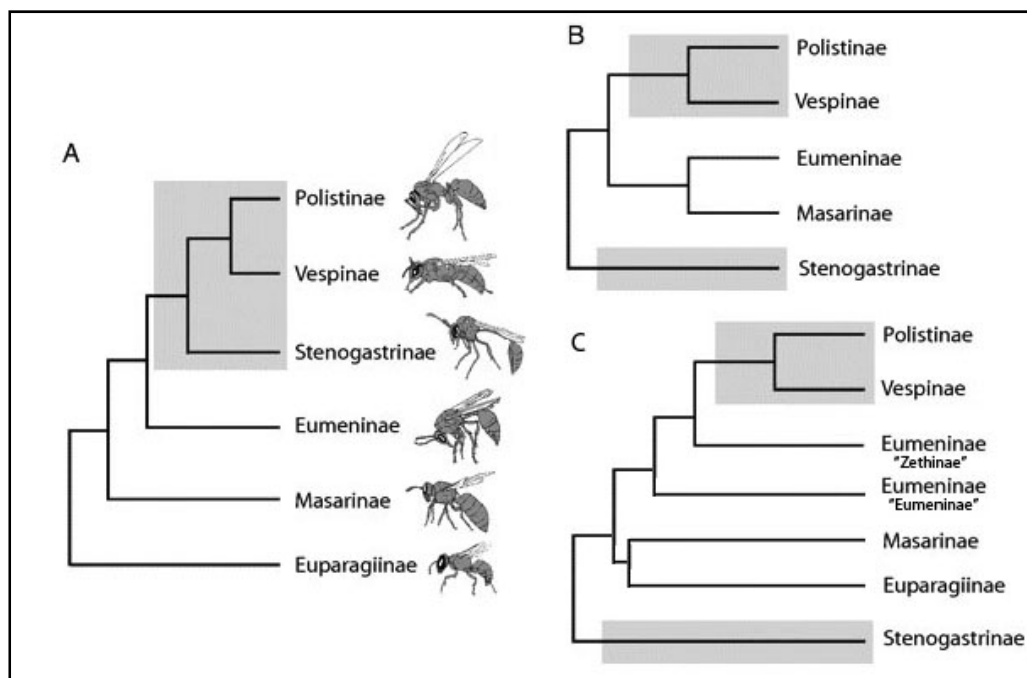
gland were examined. The females presented a gradual sequence of ovarian development: 1–filamentous ovarioles bearing no visible oocytes, 2–slightly developed oocytes, 3–nearly mature oocytes located in the base of ovary, 4–well-developed oocytes. The intermediate females were found in every colony stage. ANOVA showed that queens were significantly larger than workers in all colony phases. Univariate tests showed statically significant differences between workers and intermediates in some body parts; however, multivariate statistics revealed that intermediates are in fact workers with developed ovaries. Multivariate analyzes showed evidences of a pattern of caste differentiation during colony cycle: the morphological differences between queens and workers tend to increase during the colony cycle. These results suggest that *Polybia (T.) ignobilis* presents pre-imaginal caste differentiation.

Key-Words: Hymenoptera, castes, Epiponini, caste differentiation, Vespidae, morphological differences, wasps,

1. Introdução

1.1 Aspectos Gerais da Família Vespidae

A família Vespidae exerce um papel fundamental no estudo da evolução do comportamento social dos Hymenoptera, já que nesta família ocorrem todos os quatro estágios de organização social citados por Wilson (1971). De acordo com Carpenter (1993) a família Vespidae é composta por seis subfamílias: Euparagiinae, Masarinae, Eumeninae, Stenogastrinae, Polistinae e Vespinae, sendo que nas três últimas subfamílias há espécies eussociais (CARPENTER, 1982; CARPENTER & RASNITSNYN, 1990; CARPENTER, 1993). Recentes estudos moleculares, envolvendo o seqüenciamento de fragmentos de quatro genes nucleares, propõem que a eusocialidade em Vespidae teria duas origens diferentes e independentes: uma para os Stenogastrinae e outras para o clado Polistinae + Vespinae (HINE *et al.*, 2007). Os Stenogastrinae representam um clado mais antigo e pouco relacionado com os polistines e vespines e, portanto, com diferentes ancestrais. Deste modo, a origem da eusocialidade nos Vespidae seria difilética e não mais monofilética como tem sido proposta por West-Eberhard (1978) e Carpenter (1982, 1993) (Figura 1).



Os Euparagiinae, Masarinae e Eumeninae representam as espécies tipicamente solitárias, contudo, evidências de comportamento comunal foram encontradas em Masarinae, em *Trimeria howardi* (ZUCCHI *et al.*, 1976) e nos Eumeninae, como em *Zethus*, cujo ninho pode conter até 15 fêmeas e apresentar interações comportamentais complexas (WEST-EBERHARD, 1978, 1981).

Os Stenogastrinae representam as vespas sociais mais primitivas (=basais), se estendem da Índia até a Nova Guiné (RICHARDS, 1971). Embora a fundação do ninho seja solitária esta pode ocorrer com a presença de mais de uma fêmea em associação. Nessa subfamília, porém, não há espécies que apresentam comportamento tipicamente eussocial, uma vez que todos os indivíduos são sempre reprodutores, inexistindo a casta operária (TURILLAZZI, 1991) e as diferenças comportamentais e fisiológicas parecem ser a única forma de distinguir as rainhas das operárias (SAKAGAMI & YOSHIKAWA, 1968; YOSHIKAWA *et al.*, 1969; HANSEL *et al.*, 1982).

Os Vespinae e os Polistinae representam os grupos eussociais, embora haja evidências de espécies solitárias como em *Ropalidia formosa* (WENZEL, 1987), condição que pode ser encarada uma modificação secundária.

Os Vespinae são exclusivamente de clima temperado, ocorrem no sudeste da Ásia, na Europa e na América do Norte (RICHARDS, 1971). Entre todos os grupos de vespas sociais, o dimorfismo entre rainhas e operárias é mais pronunciado nessa subfamília, sendo a rainha muito maior que as operárias (SPRADBERY, 1991), porém, tal padrão pode representar uma adaptação para uma maior sobrevivência da rainha durante o inverno (WEST-EBERHARD, 1978). A maioria dos Vespinae, exceto *Provespa anomala* (MATSUURA, 1991) fundam seus ninhos independentemente, ou seja, o ninho é iniciado por apenas uma rainha inseminada. Quanto à morfologia interna, o número de ovariolos/ovários varia de seis a doze conforme a espécie (KUGLER *et al.*, 1976), os demais grupos apresentam três ovariolos/ovário (c.f. EVANS & WEST-EBERHARD, 1970; SPRADBERY, 1973 e WATSON *et al.*, 1985).

Os Polistinae são o maior e mais diversificado grupo de vespas sociais, atualmente distribuídos em 4 tribos: Polistini, Mischocyttarini, Ropalidini e Epiponini (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação e distribuição geográfica dos Polistinae (Carpenter, 1993 e 2004; Fonte: Noll *et al.*, 2004).

TRIBO	GÊNEROS	DISTRIBUIÇÃO
Polistini	<i>Polistes</i>	Cosmopolita, exceto Nova Zelândia
Mischocyttarini	<i>Mischocyttarus</i>	Argentina até sudeste e oeste dos Estados Unidos, Columbia Britânica
Ropalidiini	<i>Ropalidia</i> , <i>Parapolybia</i> , <i>Polybioides</i> , <i>Belanogaster</i>	Austrália, África sub-Sahara, Península Arábica, trópicos orientais, China, Coreia, Japão, Irã, África Equatorial, Índia
Epiponini (=Polybiini, auct.)	<i>Apoica</i> , <i>Agelaia</i> , <i>Angiopolybia</i> , <i>Pseudopolybia</i> , <i>Parachartergus</i> , <i>Leipomeles</i> , <i>Chartergellus</i> , <i>Nectarinella</i> , <i>Protopolybia</i> , <i>Polybia</i> , <i>Protonectarina</i> , <i>Charterginus</i> , <i>Chartergus</i> , <i>Brachygastra</i> , <i>Epipona</i> , <i>Synoeca</i> , <i>Asteloeca</i> , <i>Clypearia</i> , <i>Metapolybia</i>	Argentina até sudeste dos Estados Unidos (representantes de <i>Polybia</i> e <i>Brachygastra</i> ocorrem no Texas e Arizona)

O grupo monofilético Neotropical formado pela tribo Epiponini compreende 19 gêneros (CARPENTER, 2004; Tabela 1) ocorrendo da Argentina até os Estados Unidos. No Brasil, os Epiponini são ecologicamente dominantes e se caracterizam por notável irradiação adaptativa atingindo sua máxima diversidade (JEANNE 1975, 1980). Juntamente com alguns Ropalidini, os epiponíneos fundam novas colônias através da produção de enxames, sendo conhecidas como “swarm-founding Polistinae”.

Entre os característicos mais notáveis da bionomia dos Epiponini destacam-se: presença de poliginia, reprodução das colônias por enxame, baixa diferenciação inter-castas, diversidade de arquitetura de ninhos e presença de intermediárias.

1.2 As definições de Castas

A separação em castas é uma das pedras fundamentais da evolução dos insetos sociais, pois a presença de uma grande diferenciação entre as castas indica uma maior divisão reprodutiva de trabalho e conseqüentemente um maior grau de socialidade (BOURKE, 1999).

Alguns autores propuseram que a presença de uma casta estéril permanente não deveria ser considerada um critério para a eussocialidade, uma vez que há espécies nas quais alguns indivíduos apresentam flexibilidade atuando como ajudantes temporárias, mas que podem atingir o status reprodutivo (GADAGKAR, 1994; KELLER & PERRIN, 1995; SHERMAN *et al.* 1995). Entretanto, outros autores apresentam uma abordagem distinta e oposta, sendo obrigatório a presença de uma casta estéril permanente no contexto eusocial (TSUJI, 1992; CRESPI & YANEDA, 1995). Michener (1974) criou o termo “altamente eusocial” para denotar um nível evolucionário distinto caracterizado por uma diferenciação

morfológica de castas. Posteriormente, Villet (1992) definiu que o termo “casta” só poderia ser empregado para espécies que apresentassem diferenças morfológicas entre indivíduos resultantes de padrões diferenciados de desenvolvimento, portanto, segundo essa abordagem, indivíduos morfológicamente distintos pertenceriam a castas distintas independentemente de suas funções na colônia.

Uma visão mais abrangente foi utilizada por O’Donnel (1998) que propôs que o termo “casta” deveria ser empregado a um polifenismo reprodutivo não necessariamente refletido em diferenças morfológicas externas sendo que os aspectos morfológicos não deveriam ser o principal critério para delimitação de castas, contudo, as castas devem ser determinadas durante o desenvolvimento e esse processo é irreversível. De fato, em algumas espécies de vespas, nas quais é inquestionável uma diferenciação pré-imaginal de castas, operárias não são completamente estéreis (BOURKE, 1988). Como em abelhas altamente eussociais (WINSTON, 1987) operárias de certas espécies de vespas sociais podem e efetivamente botam ovos, especialmente quando a rainha é perdida ou removida, tal situação pode ocorrer até mesmo nos Vespinae (LANDOLT *et al.* 1977).

Em gêneros eussociais basais, como em *Mischocyttarus*, pode ocorrer a presença de mais de uma fêmea inseminada e com capacidade reprodutiva em uma mesma colônia, sendo a diferenciação entre reprodutivas e não reprodutivas flexível e complexa, dependendo de aspectos fisiológicos, comportamentais e ecológicos (MURAKAMI & SHIMA, 2006; OLIVEIRA, 2007; SILVA, 2008). Nos Epiponini, grupo altamente social, nota-se a presença de fêmeas intermediárias, não inseminadas com certo grau de desenvolvimento ovariano. Estudos recentes têm revelado que essas fêmeas têm importante participação no controle da oligoginia cíclica (MATEUS, 2005).

Noll & Wenzel (2008) criticam a visão reducionista utilizada por vários autores atuais que consideram que para uma espécie ser considerada altamente social é necessário que a reprodução seja monopolizada por apenas um único indivíduo (a rainha *stricto sensu*) como é observado em algumas abelhas como as do gênero *Apis* e certas espécies de formigas. Para os autores, não considerar os Epiponini como altamente sociais devido a sua condição polígina seria também ignorar importantes características de sua história natural que são muito parecidos com os observados em abelhas altamente eussociais: a reprodução através de enxames, colônias muito populosas, cuidado exclusivamente alop parental, as tarefas de construção do ninho, defesa de colônia envolve a cooperação de centenas ou milhares de indivíduos. Para Noll & Wenzel (2008) o termo rainha tem um significado muito mais abrangente que o “indivíduo que põe os ovos” e por isso termos como “operárias poedeiras”

tem grande importância no estudo dos Epiponini, uma vez que outras fêmeas que não rainhas podem botar ovos.

1.3 Diferenciação de castas e variabilidade nos Polistinae.

Os padrões de diferenciação entre as fêmeas nas vespas sociais são bastante variáveis. Na Subfamília Stenogatrinae não há dimorfismo entre as fêmeas, sendo as diferenças apenas fisiológicas e comportamentais (PARDI & PICCIOLI, 1981; TURILLAZZI, 1991). Nos Vespinae, as castas são tipicamente pronunciadas, sendo a rainha muito maior que as operárias (SPRADBERY, 1991).

Os Polistinae localizam-se em uma condição intermediária entre as duas subfamílias citadas acima (CARPENTER, 1982), notando-se uma perfeita graduação, ou seja, desde espécies morfológicamente muito distintas até aquelas sem qualquer distinção, nem mesmo estatisticamente (RICHARDS, 1971, 1978). Os gêneros mais basais, como *Polistes* e *Mischocyttarus*, fundam seus ninhos solitariamente e exibem um sistema de dominância e subordinação baseado principalmente em interações agonísticas entre os indivíduos, sendo que a fêmea mais agressiva se tornará a poedeira. Normalmente as fêmeas distinguem-se através do comportamento (hierarquia de dominância) e do desenvolvimento ovariano (CUMBER, 1951; EICKWORT, 1969). Gobbi *et. al* (2006), verificou as fêmeas de agregados de *Polistes versicolor* tendem a ser significativamente maiores que outras fêmeas e a apresentarem ovários mais bem desenvolvidos. Essas diferenças seriam adaptações dos agregados de vespas neotropicais que permitiriam que as fêmeas pudessem escolher entre fundar um novo ninho imediatamente após o abandono do ninho parental ou esperar por condições ambientais mais favoráveis. Recentes estudos têm demonstrado a ausência de diferenciação morfológica de castas na tribo Mischocitarrini, sendo fatores fisiológicos (como desenvolvimento ovariano e quantidade de tecido gorduroso) e intrínsecos à colônia preponderantes na distinção dos papéis sociais, sendo estes altamente flexíveis (MURAKAMI & SHIMA, 2006; MURAKAMI, 2007; OLIVEIRA, 2007; SILVA, 2008).

Os Ropalidiini apresentam uma grande diversidade que torna difícil a análise sem maiores estudos. Algumas espécies de *Ropalidia* mostram diferenças morfológicas entre as castas (YAMANE *et al.*, 1983), incluindo aquelas cujas colônias são pequenas (WENZEL, 1992), em contrapartida, outras espécies não apresentam castas morfológicamente distintas, apesar de formarem grandes colônias (GADAGKAR & JOSHI, 1982, 1983; YAMANE &

ITÔ, 1987; GADAGKAR, 1987; SHIMA *et al.*, 2000). Há a presença de castas em *Parapolybia* (YAMANE & MAETA, 1985), porém, faltam estudos comportamentais. *Belonogaster* é um gênero pouco estudado (PARDI & PICCIOLI, 1981), embora, saiba-se que ocorre grande variação morfológica (KEPPING, 2000, 2002). Em *Polybioides*, castas morfológicamente distintas são conhecidas em *P. tabidus* (TURILLAZZI *et al.*, 1994).

Por apresentarem poliginia e complexa diferenciação de castas, os Epiponini (CARPENTER 1993, 1997) despertam grande interesse em estudos de evolução de castas (RICHARDS & RICHARDS 1951, RICHARDS, 1971; 1978). Além disso, a ocorrência de intermediárias (RICHARDS & RICHARDS, 1951), fêmeas não inseminadas com desenvolvimento ovariano consistente, adiciona maior complexidade ao problema da diferenciação de castas neste grupo. Estas fêmeas foram descritas em colônias de *Polybia* (*T.*) *crysothorax*, *P. jurinei*, *Parachartergus fraternus* (MATEUS, 2005), *Angiopolybia* spp., *Chartergellus communis* (RICHARDS & RICHARDS, 1951; MATEUS *et al.*, 1997), *Brachygastra scutellaris* (CARPENTER & ROSS, 1984), *B. lecheguana*, *Parapolybia varia*, *Polybia* (*T.*) *ignobilis* (SHIMA, 1991), *Pseudopolybia vespiceps* (SHIMA *et al.*, 1998), *Protopolybia exigua* (NOLL *et al.*, 1996), *Polybia paulista* (NOLL, 1995) e *Protopolybia chartergoides* (NASCIMENTO, 2003; FELIPPOTTI *et al.* 2008). Vários estudos vêm contribuindo para explicar as funções das intermediárias na colônia, contudo, segundo Naumann (1970) e Simões (1977) os ovos botados por intermediárias foram sempre comidos suportando a conclusão que estes seriam ovos tróficos e desempenhariam um papel na circulação de energia em insetos que não apresentam meios adequados para a estocagem de proteínas (HUNT, 1991). Segundo Simões (1977), todas as fêmeas apresentam algum desenvolvimento ovariano ao longo da vida, e, como proposto por Forsyth (1978), West-Eberhard (1978) e Gastreich *et al.* (1993) as intermediárias representariam rainhas jovens e, portanto, ainda não inseminadas. Mateus (2005), estudando *Parachartergus fraternus*, evidenciou a ocorrência de competição entre rainhas e intermediárias para a realização de posturas durante a fase de estabelecimento, podendo haver eliminação de rainhas com baixo potencial reprodutivo.

Inicialmente Richards (1978) documentou três formas de diferenciação entre castas nos Polistinae, em especial nos Epiponini: (1) rainhas maiores que operárias (*A. areata*, JEANNE & FAGEN, 1974, *A. vicina*, SAKAGAMI *et al.*, 1996, *Protonectarina sylveirae*, SHIMA *et al.*, 1996b; *Epipona guerini*, HUNT *et al.*, 1996; *Polybia scutellaris*, NOLL *et al.*, 1997); (2) dimorfismo evidente, com rainhas menores que operárias em algumas partes do corpo, porém, maiores em outras e ausência de intermediárias (*Apoica flavissima*, SHIMA *et*

al., 1994; *Polybia dimidiata*, SHIMA *et al.*, 1996a). Jeanne *et al.*, (1995) sugeriram que este padrão pode ser resultado de uma reprogramação ontogenética dos padrões de crescimento dos discos imaginais sendo tal característica uma condição ancestral dos sistemas de castas nos Epiponini; (3) diferenças morfológicas leves ou ausentes e intermediárias presentes (*Pseudopolybia vespiceps*, SHIMA *et al.*, 1998, *Protopolybia exigua*, NOLL *et al.*, 1996). O recente estudo de Felippotti *et al.*, (2008) revelou uma leve diferenciação morfofisiológica entre as castas de *Protopolybia chartergoides*, ou autores sugerem que devido ao baixo grau de diferenciação a determinação das castas dessa espécie pode ser pós-imaginal, contudo, mínimas diferenças de tamanho encontradas para essa espécie podem ser importantes na eliminação de rainhas durante a oligoginia cíclica (NOLL & ZUCCHI, 2002). Resultados semelhantes foram encontrados por Nascimento (2003) para a mesma espécie.

Segundo Noll *et al.* (2004), foi possível estabelecer cinco padrões de diferenciação de castas nos Epiponini: (1) ausência de diferenciação de castas; (2) apenas diferenças fisiológicas; (3) rainhas maiores que as operárias com a presença de intermediárias; (4) rainhas morfológicamente diferentes das operárias com ausência de intermediárias e (5) rainhas menores em alguns aspectos que as operárias.

Contudo, estudos da influência do ciclo colonial sobre a diferenciação de castas nos epiponines ainda são escassos, segundo Noll & Zucchi (2002) foi possível estabelecer cinco formas de diferenciação de castas ao longo do ciclo colonial nesta tribo:

1. Ausência de diferenciação morfológica entre rainhas e operárias durante todo o ciclo colonial, como observado em *Chartergellus communis*, no qual todas as castas apresentam determinação pós-imaginal, diferentemente do que ocorre em outras espécies (SHIMA *et al.* 1994; JEANNE *et al.* 1995; SHIMA *et al.* 1996a, b; JEANNE, 1996; HUNT *et al.* 1996, BAIIO *et al.* 1998), além disso, observa-se baixa diferenciação intercastas, presença de vários tipos ovarianos e a presença de fêmeas intermediárias, as apresentam potencial reprodutivo e podem alcançar o status de rainhas (WEST-EBERHARD, 1978;1981; FORSYTH, 1978).

2. Diferenças ausentes entre rainhas e operárias durante todo o ciclo colonial, sugerindo que fêmeas jovens podem desenvolver seus ovários apenas em algumas fases do ciclo, fato observado em *Metapolybia aztecoides*, *Synoeca cyanea* e *S. surinamensis*, desta forma, a capacidade dessas fêmeas jovens atingirem status reprodutivo poderá se restringir aos períodos de orfandade da colônia (WEST-EBERHARD, 1981).

Noda *et al.* (2003) estudando *S. cyanea*, observou diferenciação incipiente entre as castas, as fêmeas intermediárias apareceram principalmente nas colônias na fase de

estabelecimento e matura apresentando ovários mais curtos que os das rainhas. As rainhas por sua vez, apresentaram os ovários mais bem desenvolvidos na fase de pré-emergência indicando alta capacidade reprodutiva nesta fase.

3. Rainhas com tamanho variável na fase de pré-emergência e monomórficas na fase de produção de operárias tendendo estarem entre os maiores indivíduos da colônia. Na fase de produção de machos as rainhas são os indivíduos maiores (NOLL & ZUCCHI, 2000). Fêmeas intermediárias estão presentes durante todo o ciclo colonial como observado em *Protopolybia exígua* e *P. sedula* (BAIO, 1998), provavelmente devido à alta taxa de oofagia nestas colônias, desta forma essas fêmeas assumem papel importante na circulação de energia na colônia com a produção de ovos tróficos.

4. Fêmeas intermediárias aparecem em alguma fase do ciclo colonial ocorrendo aumento nas diferenças entre as castas ao longo do ciclo colonial, similar ao observado em *Chartergus globiventris*, *Protonectarina sylveirae* e algumas espécies de *Polybia*. O desenvolvimento ovariano em outras fêmeas, que não sejam as rainhas, pode evidenciar menor dominância na colônia.

5. Diferenças morfológicas entre rainhas e operárias são evidentes durante todo o ciclo colonial, não ocorrendo fêmeas intermediárias, ou seja, as operárias não apresentam potencial reprodutivo. Isto foi observado em *Apoica* e *Agelaia*, alinhado com a definição clássica de castas e alta eussocialidade, onde rainhas diferem morfofisiologicamente das operárias.

Além de diferenças morfofisiológicas, rainhas e operárias podem ser distinguidas a partir de diferenças na nutrição durante o período larval, ou seja, ocorrendo determinação pré-imaginal de castas (JEANNE *et al.*, 1995; O'DONNELL, 1998), como observado em *Dolichovespula maculata* (FELIPPOTTI, 2006), a qual exibe uma clara determinação pré-imaginal, fato este provavelmente relacionado à diferenças na quantidade de alimento oferecido às larvas de rainhas, bem como ao tamanho das células de cria (MONTAGNER, 1967). Isto pode implicar em mudanças nos parâmetros de sub-fertilidade (WEST-EBERHARD, 1978) e acasalamento diferencial na evolução do comportamento eussocial (O'DONNELL, 1998). Além disso, de acordo com Taverna (2006), caracteres ligados à coloração corporal e ao apódema transversal indicam diferenciação pré-imaginal de castas em *Polybia emaciata*.

A Tabela 2 apresenta um resumo das diferenças morfométricas entre as castas de algumas espécies de Epiponini até hoje estudadas.

Tabela 2. Diferenças morfométricas encontradas na Literatura (Fonte: Noll *et al.*, 2004).

STATUS	ESPÉCIES
Sem diferença significativa	<i>Angiopolybia pallens</i> ^{12,15} , <i>Asteloeca traili</i> ¹² , <i>Brachygastra lecheguana</i> ²⁵ , <i>B. moebiana</i> ¹⁵ , <i>Chartergellus communis</i> ^{15,17} , <i>Clyperia sulcata</i> ¹² , <i>M. cingulata</i> ^{13,14} , <i>Parachartergus smithi</i> ⁸ , <i>Pa.colobopterus</i> ²⁶ , <i>Pa. fraternus</i> ^{15,21} , <i>Polybia bicytarella</i> ¹³ , <i>Po. chrysothorax</i> ¹⁵ , <i>Po.erythrothorax</i> ¹⁵ , <i>Po. micans</i> ¹⁵ , <i>Po. quadricincta</i> ¹⁵ , <i>Synoeca chalibea</i> ¹⁵ , <i>S. surinama</i> ^{12,15} , <i>Pseudopolybia vespiceps</i> ²⁴
Rainhas maiores	<i>Agelaia areata</i> ⁶ , <i>A. fulvofasciata</i> ¹⁵ , <i>A. lobipleura</i> ¹⁵ , <i>A. yepocapa</i> ⁵ , <i>Brachygastra angusti</i> ^{3,a} , <i>B. bilinolata</i> ¹⁵ , <i>Chartergus fulvus</i> ¹² , <i>Chartergus chartarius</i> ¹⁵ , <i>C. globiventris</i> ¹⁰ , <i>C. metanotalis</i> ¹² , <i>Epipona tatua</i> ^{12,15} , <i>E. guerini</i> ⁴ , <i>Leipomeles dorsata</i> ¹² , <i>Metapolybia docilis</i> ² , <i>Nectarinella champion</i> ¹² , <i>Polybia belemensis</i> ¹⁵ , <i>Po.bistriata</i> ^{13,b} , <i>Po. catillifex</i> ^{13,c} , <i>Po. emaciata</i> ¹⁵ , <i>Po. jurinei</i> ¹⁵ , <i>Po. occidentalis</i> ^{15,19} , <i>Po platycephala</i> , <i>Po. silvestris</i> ¹³ , <i>Po. rejecta</i> ^{12,15} , <i>Po ruficeps</i> ¹⁵ , <i>Po scutellaris</i> ^{15,18} , <i>Po singularis</i> ¹⁵ , <i>Po. spinifex</i> ¹² , <i>Po. striata</i> ¹⁵ , <i>Protonectarina sylveirae</i> ²³ , <i>Protopolybia exigua</i> ¹⁰ , <i>Pr. minutissima</i> ¹³ , <i>Pr. pumila</i> ¹³ , <i>Pr.sedula</i> ¹⁵ , <i>Pseudopolybia compressa</i> ¹⁵ , <i>Synoeca cyanea</i> ⁹
Rainhas menores em algumas medidas, maiores em outras	<i>Agelaia multipicta</i> ¹¹ , <i>A. pallipes</i> ^{15,11} , <i>A. vicina</i> ¹ , <i>Apoica flavissima</i> ²² , <i>Ap. gelida</i> ¹⁵ , <i>Ap. pallens</i> ^{15,16} , <i>Brachygastra scutellaris</i> ^{13,14} , <i>Metapolybia aztecoides</i> ¹² , <i>Polybia dimidiata</i> ^{15,20} , <i>Po. liliacea</i> ¹² , <i>Pseudopolybia difficilis</i> ⁷

Índice de Autores:

a Richards (1978) nenhuma diferença encontrada

b Carpenter and Ross (1984) rainhas sutilmente menores que operárias, porém, sem diferença significativa.

c Richards e Richards (1951) nenhuma diferença encontrada

- | | | |
|--------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Baio <i>et al.</i> (1998) | 10. Noll & Zucchi (2002) | 19. Noll <i>et al.</i> (2000) |
| 2. Baio <i>et al.</i> (2003a) | 11. Noll <i>et al.</i> (1997) | 20. Shima <i>et al.</i> (1996b) |
| 3. Baio <i>et al.</i> (2003b) | 12. Noll (2004) | 21. Mateus <i>et al.</i> (2004) |
| 4. Hunt <i>et al.</i> (1996) | 13. Richards & Richards (1951) | 22. Shima <i>et al.</i> (1994) |
| 5. Hunt <i>et al.</i> (2001) | 14. Carpenter & Ross (1984) | 23. Shima <i>et al.</i> (1996a) |
| 6. Jeanne & Fagen (1974) | 15. Richards (1978) | 24. Shima <i>et al.</i> (1998) |
| 7. Jeanne (1996) | 16. Jeanne <i>et al.</i> (1995) | 25. Shima <i>et al.</i> (2000) |
| 8. Mateus <i>et al.</i> (1997) | 17. Mateus <i>et al.</i> (1997) | 26 Strassman <i>et al.</i> (1991) |
| 9. Noda <i>et al.</i> (2003) | 18. Noll & Zucchi (2000) | |

Recentes estudos apresentaram compilações filogenéticas de dados morfológicos de várias espécies de Epiponini com objetivo de traçar a evolução da diferenciação de castas nos Epiponini. Em Noll *et al.* (2004) as diferenças entre as castas (ou a ausência de diferenciação) de 30 espécies de Epiponini foram combinadas com matrizes morfológicas e comportamentais usadas nos estudos cladísticos de Wenzel & Carpenter (1994). Os resultados demonstraram quatro síndromes de diferenciação de castas facilmente interpretáveis filogeneticamente. A sequência de transição de uma síndrome para outra corroboram o modelo de Wheeler (1991) para formigas. Neste modelo a condição inicial seria uma variação monofásica, sendo que as mesmas relações alométricas operam dentro de uma variação continua de tamanho. O próximo passo seria o rompimento desse contínuo de tamanho e a produção de indivíduos de diferentes tamanhos e talvez nos papéis comportamentais. Uma vez que esta distinção tenha se tornado regular, modificações no desenvolvimento poderiam levar a uma condição de crescimento alométrico, sendo algumas partes corpóreas maiores e outras menores.

Finalmente, essa condição evoluiria a uma diferenciação de castas baseado em formas corpóreas distintas. Desta forma, o trabalho de Noll *et al.* (2004) indica que as castas evoluíram de diferentes formas nas diferentes linhagens de Epiponini, contudo, a partir de uma condição basal de uma sociedade sem casta. O estudo de Noll & Wenzel (2008) conclui que as vespas enxameantes, na sua origem, diferem de *Polistes* e de *Mischocyttarus* no fato de que não produzem prole progressivamente maior, começando com operárias e terminando com reprodutivas. Através desse estudo conclui-se que a maioria dos Epiponini tanto não apresenta uma casta reprodutiva significativa como descendem de ancestrais que não apresentavam castas. Ainda, o papel dominante e supressor da rainha como observado em *Polistes* não existe nos Epiponini, sendo que as colônias de Epiponini são melhores caracterizadas como uma conspiração de operárias, onde algumas podem botar ovos (NOLL & WENZEL, 2008).

1.4 Ciclos coloniais nos Epiponini

Segundo Jeanne (1991) ciclo colonial “é o período de desenvolvimento que dura do final de um episódio reprodutivo ao fim do próximo”. Porém, o desenvolvimento do ciclo colonial encontra-se sobre forte influência ambiental. Os ciclos coloniais de vespas da zona temperada são geralmente anuais e sincrônicos (Jeanne, 1991), o início da fundação do ninho limita-se ao começo da estação favorável. Nas espécies da zona Neotropical, na qual os Epiponini prosperam, os ciclos coloniais tornaram-se mais plásticos ou assincrônicos, a fundação de novos ninhos apresenta um padrão de distribuição amplamente difundido ao longo de vários meses e estações, exceto durante a parte mais severa do inverno. Estudo com *Polistes* (WEST-EBERHARD, 1969; GOBBI & ZUCCHI, 1980; GIANNOTTI & LETÍZIO MACHADO, 1994), *Mischocyttarus* (JEANNE, 1972; GOBBI & SIMÕES, 1988; *Polybia*, SIMÕES & MECHI, 1983) e *Parachartergus* (STRASSMAN *et al.*, 1997) têm demonstrado essa ampla flexibilidade dos ciclos coloniais em espécies neotropicais.

Uma vez que o clima deixa de ser um empecilho para o término da colônia nas espécies neotropicais, pode-se verificar que a congruência entre ciclo colonial e duração do ciclo é perdida nestas espécies, ou seja, os ciclos adquiriram certo grau de independência. Richards & Richards (1951) utilizou-se desse fenômeno para distinguir dois tipos principais de comportamentos relacionados à duração das colônias nos Epiponini: colônia de ciclo único (univoltinas) e aquelas com vários ciclos (multivoltinas).

A variação do número de rainhas ao longo do ciclo colonial é outro fator que chama atenção dentro dos Epiponini. Segundo a teoria da *kin-selection* o grupo dos Hymenoptera estaria pré-disposto à eussocialidade em razão do elevado relacionamento gênico entre irmãs acarretado pela haplodiploidia. Entretanto, a condição poligínica, encontrada nos Epiponini, diminui o “fitness” ganho via cooperação em proporção ao crescimento do número de rainhas, fazendo com que Hamilton (HAMILTON, 1972:217) expusesse suas próprias dúvidas quanto à universalidade da *kin-selection*: “*In my opinion the polygyny in Polybiini (for example) and its contrast with organization of Polistes and Vespinae, provides the most testing difficulty for the interpretation of the social insect pattern which is offered in this review*”, lembrando que os Polybiini mencionados no trecho, correspondem atualmente aos Epiponini (CARPENTER, 1993). Os trabalhos de West-Eberhard (1978, 1981) com *Metapolybia aztecoides* contribuíram para elucidar aspectos envolvidos na questão propondo um modelo que pode ser generalizado para todos os Epiponini: em geral uma colônia madura emite enxame(s) composto por muitas rainhas e operárias; as fêmeas enxameantes estabelecem uma nova colônia (fase poligínica). Conforme a colônia desenvolve-se, algumas rainhas desaparecem ou assumem papéis de operárias até que a população de rainhas reduza-se a poucas ou a uma fêmea fértil (fase monogínica), embora nem sempre o número de rainhas reduza-se à unidade (monoginia). A essa alternância entre alto e baixo número de rainhas durante a ontogenia da colônia cunhou-se o termo **oligoginia cíclica**. Como a produção de novas rainhas ocorre somente em colônias maduras, ou seja, oligogínicas (STRASSMANN *et al.*, 1998), as rainhas-filhas são sempre altamente aparentadas e, portanto, dentro das previsões e postulados da *kin-selection* (HAMILTON, 1964a e b). De fato, outras espécies dessa tribo apresentam tal padrão, como *Polybia occidentalis* (WEST-EBERHARD, 1978; FORSYTH, 1978; JEANNE, 1991; QUELLER *et al.*, 1993), *Parachartergus colobopterus* (STRASSMANN *et al.*, 1991), *Polybia emaciata* (STRASSMANN *et al.*, 1992), *Protopolybia exigua* (GASTREICH *et al.*, 1993). A utilização de técnicas biomoleculares contribuiu para validar o modelo em questão, pois, vários trabalhos têm revelado o elevado parentesco ocorrente entre operárias de uma mesma colônia (QUELLER & STRASSMANN., 1998, QUELLER *et al.*, 1993; HUGHES *et al.*, 1993; SOLIS *et al.*, 1998; STRASSMANN *et al.*, 1991, 1997, 1998).

Contudo, os fatores que afetam a demografia das rainhas permanecem ainda obscuros. Estudando *Metapolybia aztecoides*, West-Eberhard (1978) observou que as operárias estariam envolvidas na manutenção da oligoginia cíclica, de modo que rainhas que produzem mais feromônios ou mais ovos, por exemplo, poderiam exibir, de algum modo, tal atributo às operárias, que por sua vez poderiam selecionar diferentemente as rainhas com maior potencial

reprodutivo. A substituição de rainhas em *Parachartergus fraternus* (MATEUS, 2005) foi acompanhada de agressões, as operárias causaram sérios danos às asas das rainhas incapacitando-as de voar.

Pode-se constatar que os ciclos coloniais nos Epiponini são bastante intrigantes e pouco compreendidos em sua totalidade, evidenciando a importância de mais estudos ontogenéticos que contribuam para a elucidação de mecanismos de manutenção da socialidade neste grupo de vespas tão diverso na zona neotropical.

2. Objetivos

Apesar de escassos os estudos bionômicos em epiponines são, em geral, difíceis. A agressividade das vespas, presença de envelope e difícil acesso aos ninhos, abandono do ninho mediante interferências, ataques de formigas e parasitas e difícil adaptação em laboratório torna o estudo com epiponines um grande desafio para os pesquisadores.

Porém, informações sociobiológicas sobre estas vespas podem ser obtidas analisando-se amostras de colônias de vespas, especialmente para a diferenciação de castas (RICHARDS & RICHARDS, 1951). Dados morfofisiológicos associados com análises estatísticas multivariadas contribuem para superar problemas que normalmente tornam difíceis os estudos comparativos (SHIMA *et al.*, 1994).

Desde os trabalhos de West-Eberhard (1978, 1981) com *Metapolybia aztecoides*, análises morfofisiológicas em colônias de Epiponini tem tomado um novo rumo. O estudo da variabilidade das castas durante o ciclo colonial, ou seja, ao longo da ontogenia da colônia, tem contribuído para elucidar questões importantes na bionômia das vespas sociais e principalmente buscar um melhor entendimento de como ocorre o controle da socialidade nesta tribo. Dessa forma os objetivos deste trabalho são: (1) Identificar as principais diferenças morfológicas e fisiológicas entre as castas ao longo da ontogenia da colônia de *Polybia (Trichothorax) ignobilis* e (2) Determinar a variabilidade dessas diferenças nesta espécie.

3. Materiais e Métodos

3.1 Estudos Morfométricos

Neste estudo foram analisadas 6 colônias de *Polybia (Trichothorax) ignobilis* coletadas em diversas localidades e em diferentes fases do ciclo colonial (Tabela 3). Após coletados, os indivíduos foram fixados em solução de Dietrich por 72 horas e depois conservados em álcool 70%.

Tabela 3. Lista das colônias coletadas que serão analisadas neste estudo.

IDENTIFICAÇÃO DA COLÔNIA	FASE DO CICLO COLONIAL	DATA DA COLETA
Colônia 54	Enxame e Migração	30/04/1995
Colônia 60	Fase Madura	28/09/1995
Colônia 62	Fase de Estabelecimento	20/11/1995
Colônia 70	Fase de Estabelecimento	21/07/1996
Colônia 74	Fase Madura	22/10/1993
Colônia S01	Fase Madura	30/03/2007

Em relação às colônias na fase madura é importante ressaltar que os tamanhos populacionais são diferentes e que após as análises morfofisiológicas e de mecônio foi possível determinar as subfases da fase madura, ou seja, pré-enxame ou pós-enxame.

Para o estudo morfométrico das colônias foi analisada uma amostra de 100 operárias separadas aleatoriamente. Depois de discriminadas, a partir da prévia observação do desenvolvimento ovariano e da condição das espermatecas, todas as rainhas e intermediárias (Exceto colônia 60 que apresentou uma população de 605 intermediárias e, portanto, uma amostra foi utilizada) foram usadas para o exame. Para determinar as diferenças morfológicas entre as castas, medidas de treze partes corporais externas (Figura 2 e Tabela 4) provenientes da cabeça, mesossoma, metassoma e asa foram feitas sob estereomicroscópio binocular Leica M3z no aumento de 16X (1 unidade ocular = 0,060mm). As fotografias foram obtidas através da lupa Leica EZ4 acoplada a um computador para capturar as imagens. Foram analisados **13970** indivíduos quanto ao tipo ovariano sendo que 3466 eram machos. O número de fêmeas dissecadas foi de 978 sendo que **12714** medidas foram realizadas.

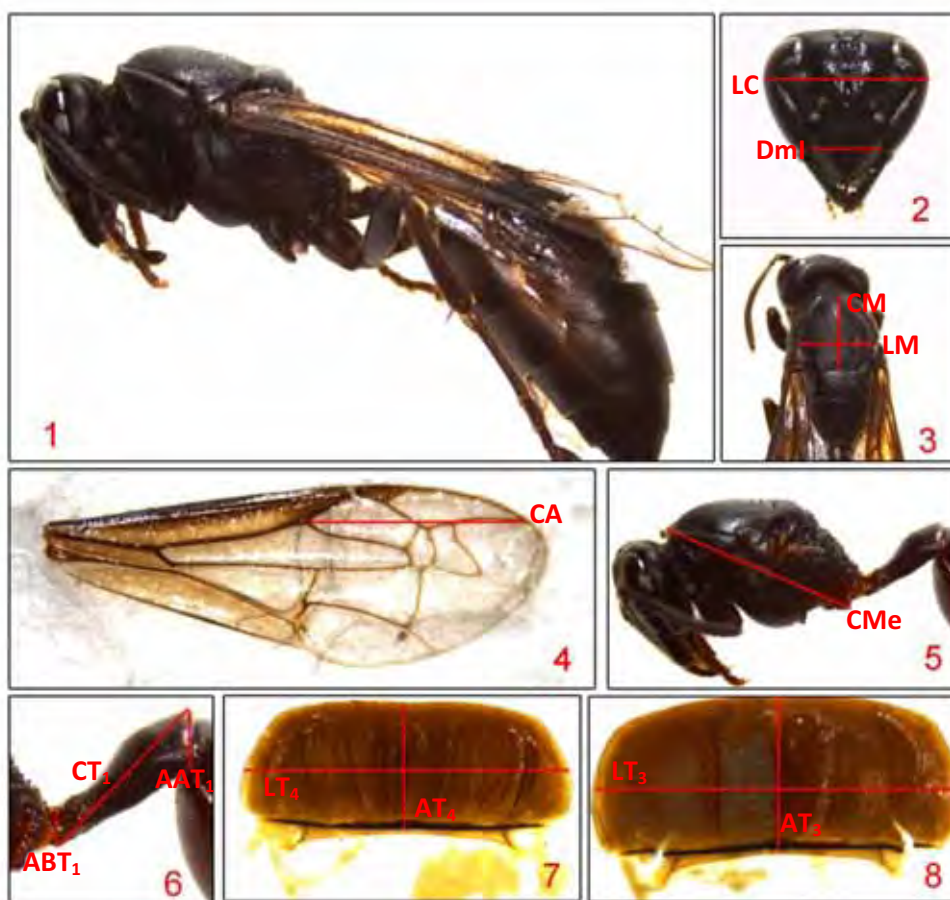


Figura 2. Indicação dos caracteres mensurados: LC; DmI; CM; LM; CME; ABT₁; AAT₁; CT₁; LT₃; AT₃; LT₄; AT₄; CA (maiores detalhes tabela 4)

Tabela 4. Descrição das variáveis morfométricas empregadas

ESTRUTURA	MEDIDA A SER REALIZADA
Cabeça	LC – Largura máxima da cabeça DmI – Distância mínima interorbital
Mesosoma	CM – Comprimento do mesoscutum LM – Largura do mesoscutum CME – Comprimento do mesossoma, perfil da extremidade do pronoto até a base final do propódeo
Metassoma	ABT ₁ – Altura basal do 1º tergito AAT ₁ – Altura apical do 1º tergito CT ₁ – Comprimento do 1º tergito LT ₃ – Largura do 3º tergito AT ₃ – Altura do 3º tergito LT ₄ – Largura do 4º tergito AT ₄ – Altura do 4º tergito
Asa	CA – comprimento da asa, da extremidade anterior da primeira célula submarginal (SM ₁) até a margem final (CM) da asa posterior direita

* Os tergitos foram retirados sendo a largura e altura mensuradas mantendo-os pressionados contra duas lâminas.

3.2 Estudo da morfologia interna

Além das medidas citadas acima, outros caracteres foram analisados: desenvolvimento ovariano e inseminação, quantidade relativa de tecido gorduroso, aspecto geral da glândula de Richards e idade relativa.

3.2.1 Desenvolvimento ovariano e inseminação

Nos insetos sociais as rainhas possuem ovários bem desenvolvidos enquanto as operárias, não. A associação entre o desenvolvimento ovariano e inseminação torna possível diferenciar as castas. Vários ovários foram esquematizados sob Lupa Leica M3z com câmara clara para comparação dos padrões de desenvolvimento ovariano. O número de oócitos em fase inicial e final de vitelogênese e o número de óvulos foram contados.

Em relação à inseminação muitos estudos a empregam como o principal critério para distinguir rainhas de operárias (RICHARDS & RICHARDS, 1951 HAGGARD & GAMBOA, 1980; REED *et al.* 1988; RATNEIKS & REEVE, 1992), contudo, é necessário bastante atenção ao utilizar esse método devido a possibilidade de rainhas recém emergidas não terem ainda copulado, especialmente em espécies que não apresentam distinção morfológica evidente (O'DONNEL, 1998). As espermatecas assumem uma coloração opaca ou perolizada quando contém espermatozóides, mesma assim, algumas técnicas facilitam a observação da espermateca já fixada. Em caso de dúvida, foi preparada uma lâmina contendo uma solução de álcool 70% mais glicerina na proporção de 1:1 e nesta foi colocada a espermateca, esmagada com uma leve pressão sobre a lamínula, sendo examinada ao microscópio para a visualização dos espermatozóides.

3.2.2 Quantidade relativa de tecido adiposo

Em geral a quantidade de tecido adiposo varia conforme a casta e idade relativa, sendo que as rainhas normalmente apresentam maior quantidade que as operárias (SHIMA *et al.*, 1994, 1996a,b, 1998, 2000).

3.2.3 Presença ou ausência da glândula de Richards

Localizada no 5º esternito gastral, segundo Richards (1971, 1978 b), pode-se diferenciar as castas através da coloração da secreção (quando presente).

3.2.4 Idade relativa

O método que foi utilizado neste estudo refere-se à análise da pigmentação progressiva da linha transversal, que se encontra na base superior dos esternitos. De acordo com Richards & Richards (1951), Richards (1971) e West-Eberhard (1973), a pigmentação progressiva dessas estruturas está relacionada à idade dos indivíduos.

3.3 Análises estatísticas

Antes da aplicação dos testes estatísticos, as mensurações foram convertidas em milímetros e logaritimizadas a fim de diminuir a variância das amostras. A partir das treze variáveis que correspondem aos treze caracteres analisados, foram calculadas as médias e desvios padrão. Para a comparação entre as médias, foi utilizado o teste One-Way Anova, o ajuste de Bonferroni foi utilizado para os testes de comparação *a posteriori* de médias. Este ajuste é apropriado quando se trabalha com um grande número de variáveis, uma vez que a realização de vários testes consecutivos pode aumentar a probabilidade de encontrar diferenças significantes devido exclusivamente ao acaso, além disso, é considerado um teste *a posteriori* mais conservador.

A análise discriminante foi utilizada para identificar os caracteres significantes na diferenciação de castas. Foi utilizado o modo de adição sucessivo das variáveis (Stepwise discriminant analysis). Neste modo o programa STATISTICA 7.0 inseriu as variáveis ao modelo em passos sucessivos, onde em cada passo, a variável com o maior valor *F to enter* foi escolhida para a inclusão do modelo, terminando quando nenhuma outra variável tivesse o valor de *F to enter* maior que a opção especificada. Para as análises foi utilizado o valor de *F to enter* padrão do programa, que é de 1.0 (Noll, 2000).

Para as variáveis estatisticamente significantes os valores de Lambda de Wilks foram observados a fim de identificar a contribuição conjunta das variáveis. O Lambda de Wilks é representado pela razão dos determinantes da matriz de soma dos quadrados do resíduo sobre a matriz de soma total dos quadrados, sendo que valores próximos de 1 significam que o resíduo é muito grande e que a variável não apresenta boa discriminação. Valores de *F to remove* e o seu valor de P associado representam o F obtido a partir do Lambda parcial e a sua respectiva probabilidade.

As Análises Canônicas foram realizadas para a determinação do tipo de alometria envolvida, sendo que o número de raízes obtidas será igual ao número de grupos menos 1. Desta maneira, haverá somente variação de tamanho entre os grupos caso apenas a primeira

raiz explique a variação. Se houver variação na segunda raiz, por exemplo, a diferença encontrada também será devido à forma (NOLL, 2000).

A Tabela 5 reúne as colônias analisadas, as fases do ciclo colonial em que foram coletadas e o número amostral (utilizado para análises morfométricas, tecido gorduroso e idade relativa) para cada grupo de fêmeas. Em todas as colônias o número de rainhas e intermediárias representa o total de indivíduos encontrados, com exceção do número de intermediárias da colônia 60 que representa uma amostragem, uma vez que foram encontradas 605 fêmeas intermediárias.

Tabela 5. Colônias analisadas, universo amostral utilizado nas análises morfofisiológicas e fases do ciclo colonial das colônias analisadas.

Colônias	Número amostral (n) utilizado			Fase do ciclo colonial
	Operárias	Intermediárias	Rainhas	
Colônia 54	100	5	9	Enxame e Migração
Colônia 62	100	13	73	Estabelecimento
Colônia 70	100	10	76	Estabelecimento
S01	100	9	19	Pré-enxameagem (Produção de Machos)
Colônia 60	100	100	12	Pré-enxameagem (Produção de Machos)
Colônia 74	100	25	27	Pós-enxameagem
Total	600	162	213	978

4. Resultados e Discussão

4.1 Aspectos gerais das colônias analisadas

Noll (1995), tentando padronizar os estágios coloniais nos Epiponini propôs as seguintes fases:

1 – Enxame e absconding (migração): Esta fase antecede a construção de um novo ninho. Quando a população é composta por indivíduos jovens proveniente da fissão reprodutiva trata-se de enxameagem, contudo, se a população for composta por fêmeas mais velhas devido a uma migração casual dá-se o nome de absconding.

2 – Estabelecimento: a população apresenta características do primeiro estágio, porém, observa-se a construção dos primeiros favos. São encontrados ovos e larvas, entretanto, não há pupas.

3 – Matura: Já se observa a presença de todos os estágios imaturos (ovos, larvas e pupas). Através da análise das camadas de mecônio presentes nas células já utilizadas constata-se pelo menos uma geração produzida.

4 – Pré-enxameagem: colônia com características do terceiro estágio ocorrendo a produção de indivíduos sexuais (rainhas e machos)

5 – Pós-enxameagem: colônia caracterizada pelo baixo número de imaturos, número reduzido de rainhas (algumas delas com idade avançada) e presença de machos.

Além disso, no estudo de Noda (1999) foi necessária a inclusão de duas outras fases, sendo descritas abaixo:

6 – Pré-emergência: Compreende o período da iniciação da construção dos favos até a emergência das primeiras operárias.

7 – “Agregado de inverno”: Formados por fêmeas oriundas de colônias abandonadas no início da estação fria. Elas permanecem nesse estado e posteriormente dão origem a novas fundações (Gobbi, 1977).

A tabela 6 resume as principais características das colônias analisadas.

Tabela 6. Características gerais das colônias analisadas.

Fase	Colônia	Fêmeas			Macho	Favos	Imaturos	Mecônio
		Operária	Intermediárias	Rainhas				
Enxame	54	767 (98%)	5(0,6%)	9(1,4%)	0	0	0	0
Estabelecimento	62	851 (90,8%)	13 (1,4%)	73(7,8%)	0	4	Ovos e larvas	0
Estabelecimento	70	1517(94,6%)	10(0,6%)	76(4,8%)	0	12	Ovos e larvas	NA
Pré-enxameagem	S01	1277(90,6%)	9(0,6%)	19(1,3%)	106(7,5%)	4	Ovos larvas e pupas	1
Pré-enxameagem	60	3278(47,5%)	605(8,76%)	12(0,17%)	3012(44%)	13	Ovos, larvas e pupas	NA
Pós-enxameagem	74	1923(82,7%)	25(1,1%)	27(1,2)	350(15,1%)	12	Ovos, larvas e pupas	Ao menos 1

NA – número de camadas de mecônio não foi analisado.

Nenhum valor populacional foi estimado, correspondem ao número total de indivíduos das colônias

A colônia 54 foi coletada no dia 30 de abril de 1995, na ponta de um galho de *Eritrina* no centro de Rio Claro. O aglomerado estava com aproximadamente dois dias e se encontrava à 2 metros do solo. Portanto, a colônia 54 encontrava-se na fase de Enxame e Migração.

A colônia 62 foi coletada 20 de novembro de 1995, encontrava-se a 2m do solo em uma caixa de madeira no biotério do campus da UNESP, em Rio Claro. Os primeiros indivíduos foram vistos sobrevoando as redondezas do local entre os dias 15 e 16 de novembro. A colônia era composta por 4 favos com aproximadamente 109 larvas e 290 ovos, não havendo presença de pupas. Não havia presença de mecônio nas células, e, dessa forma, esta colônia se encontrava na fase de estabelecimento.

A colônia 70, foi coletada na data de 31 de julho de 1996, novamente dentro de um núcleo de *Apis* à aproximadamente 50cm do solo. A colônia já estava ativa à quase 18 meses com 12 favos distanciados cerca de 1,3cm entre si. O ninho possuía 23cm de altura e 45cm de comprimento. Não havia pupas, somente larvas e ovos, o número de rainhas era razoavelmente alto (n=76, v. Desenvolvimento ovariano e inseminação). Apesar do ninho apresentar 12 favos, apenas os mais internos estavam sendo utilizado, indicando um reaproveitamento do favo. Não é incomum nos Epiponini colônias com longa duração que emitem vários enxames durante sua vida e pode ser o caso da colônia 70, sendo os favos reaproveitados. A colônia 70, portanto, encontrava-se na fase de estabelecimento.

A colônia S01 foi coletada e gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Sidnei Mateus. A colônia foi coletada em Pedregulhos-SP em 30/03/2007 em uma casa abandonada embaixo de uma porta caída. O ninho possuía 5 favos, com ovos, larvas e pupas. A análise de mecônio revelou uma camada, sugerindo produção da 1ª geração de fêmeas, constituindo-se a fase

matura. Contudo, nessa colônia foram encontrados 106 machos e então a ela, foi designada a fase de início de Pré-enxameagem.

A colônia 60 foi coletada no dia 28 de setembro de 1995, foi encontrada dentro de um núcleo de *Apis*, já estava ativa a cerca de 2 anos. No total foram contados 13 favos, as dimensões do ninho eram de 26 cm de altura por 30 cm de comprimento com forma globular.

A contagem dos indivíduos totalizou exatamente 6905 vespas sendo que 3.012 (44%) eram machos e 3.893 (56%) eram fêmeas, isso dá uma razão próxima de 1 macho para cada 1 fêmeas. Na ocasião em que a colônia foi coletada não foi contado o número de larvas e pupas, e infelizmente, o ninho não foi encontrado para a finalização destes dados. Contudo, a longa atividade desta colônia, a presença de muitos machos e principalmente baixíssimo número de rainhas encontradas (v. desenvolvimento ovariano) indicam que a colônia pudesse estar em um estágio avançado da fase de produção de sexuais (Pré-enxameagem). O número de pupas representa cerca de 5% do total de células disponíveis na colônia.

A colônia 74 foi coletada 22 de outubro de 1993 retirado do telhado de um rancho à margem do Rio Pardo em Ribeirão Preto-SP. A colônia possuía 12 favos não havia larvas, poucas pupas e ovos. Foi observado pelo menos 1 camada de mecônio. Foram encontrados 350 machos, 27 rainhas e 25 intermediárias. Devido a tais características a colônia 74, provavelmente, estava na fase final do ciclo colonial ou na pós-enxameagem.

4.2 Desenvolvimento ovariano e inseminação

Os resultados obtidos quanto ao grau de desenvolvimento ovariano de *Polybia (Trychothorax) ignobilis* para as colônias analisadas podem ser observados nas Figuras 3 e 4.

Nota-se quatro tipos de ovários de acordo com seu grau de desenvolvimento. Os resultados são similares ao observado por Shima (1991), onde se destacam o padrão A representado por ovários filamentosos sem o desenvolvimento de oócitos; o padrão B, com a presença de oócitos em início de desenvolvimento; o padrão C com ovários ligeiramente alargados com oócitos em fase final de vitelogênese e finalmente o padrão D e D1, com ovários muito desenvolvidos com oócitos maduros de tamanho suficiente para a postura. Rainhas com o padrão D1 foram apenas encontradas na colônia 60 que estava na fase de pré-enxameagem e tal fato pode representar uma adaptação das poucas rainhas encontradas frente ao grande número de operárias, garantindo o monopólio reprodutivo da colônia. Tal aspecto será abordado ainda nesta seção.

Sendo assim, das fêmeas que não estavam inseminadas as que apresentaram ovários tipo A e B foram classificadas como operárias e as com o padrão C de intermediárias. As

fêmeas que apresentaram o padrão D e espermateca contendo espermatozóides foram classificadas como rainhas.

Do total de 781 indivíduos encontrados na colônia 54 (Enxame), as operárias com o padrão ovariano B foram de longe o grupo com maior número de indivíduos totalizando 92%(n=718) da população, os indivíduos com o padrão ovariano A representaram 6,3%(n=49) da população, os com o padrão C 0,64%(n=5) e os com o padrão D 1,15%(n=9).

Na colônia 62 (Estabelecimento), dos 937 indivíduos encontrados 851 (90,8%) foram classificados como operárias, sendo que 78,1%(n=732) indivíduos apresentaram ovário do tipo B e 12,7%(n=119) o tipo A. Do total de indivíduos da colônia, 1,4%(n=13) foi classificado como fêmeas intermediárias e apresentaram o padrão C. Foram encontradas 73 rainhas representando 7,8 (n=73)% do total de indivíduos da colônia. Todas as rainhas apresentaram ovário tipo D e estavam inseminadas, enquanto as demais fêmeas não estavam inseminadas.

A colônia 70 (Estabelecimento) apresentou um total de 1613 indivíduos, e destes 27,8%(n=448) apresentaram o padrão ovariano A, 66,9%(n=1079) o padrão B, 0,62%(n=10) apresentaram o padrão C e 4,71%(n=76) o padrão D.

A colônia S01 (Pré-enxameagem) apresentou um total de 1411 indivíduos, sendo 106 (7,5%) machos (Figura 5). Do total de indivíduos 1277(90,5%) foram classificadas operárias, sendo que 21,7% (n=305) apresentaram o ovário tipo A e 68,9% (n=972) o ovário tipo B. Nove fêmeas foram classificadas com intermediárias (0,6%) e 19 como rainhas (1,3%).

Já na colônia 60 (Pré-enxameagem), 8.73% (n=602) dos indivíduos apresentaram ovário tipo A, 38.72% (n=2674) o ovário tipo B, 8.76% (n=605) o tipo C e apenas 0.17% (n=12) o padrão D. No total foram encontrados 6903 indivíduos nessa colônia. Também foram encontrados 3010 machos nesta colônia (Figura 5).

Na colônia 74 (Pós-enxameagem), do total de fêmeas (n=1975, 85% da população), 1923 (97,3%) foram classificadas com operárias, 25 (1,3%) como intermediárias e 27 (1,4%) como rainhas. Nesta colônia foram encontrados 305 machos (15,1% do total da população). Em relação às operárias 76,4% (n=1470) apresentaram o ovário tipo B e 23,6% (n=453) o tipo ovariano A.

Nas fases iniciais do ciclo (colônias 54, 62 e 70), os ovários não estavam enrolados, contudo, fases mais avançadas do ciclo (colônias S01, 60 e 74) os ovários estavam mais bem desenvolvidos e encontravam-se, em geral, enrolados. Na colônia 60 os ovários das rainhas estavam extremamente enrolados (Figura 3: Ovário D1, Figura 4A e 4D). Tal padrão também foi observado por Shima (1991) em *P. (T.) sericea* e *Brachygastra lecheguana* que

apresentaram tal característica ovariana provavelmente para compensar o baixo número de rainhas encontradas nas colônias analisadas, principalmente em *B. lecheguana* (n=2). Além do mais, esta última apresentou um grande número de intermediárias (n=181). Contudo, para esta espécie e também para *Polybia (T.) ignobilis* as intermediárias são claramente operárias (Ver Análises morfométricas das colônias analisadas), não podendo ser consideradas como um estágio de rainhas jovens (RICHARDS, 1971, 1978; FORSYTH, 1998). Tal síndrome também foi verificada em *Protopolybia exigua* (SIMÕES, 1977; NOLL *et al.*, 1996) e em *Brachygastra mellifica* (HASTINGS *et al.*, 1998).

Uma separação fisiológica entre fêmeas que são reprodutivas daquelas que não são é possível baseando-se nas condições ovarianas (NOLL *et al.*, 2004). Uma completa ausência de tipos ovarianos B e C foi encontrado em *Apoica flavissima*, *Agelaia vicina* (SAKAGAMI *et al.*, 1996), *Agelaia pallipes* e *Ag. multipicta* (NOLL *et al.*, 1997). Em *Polybia (T.) ignobilis* o ovário das rainhas foram significativamente maiores que das operárias e intermediárias, permitindo uma clara separação fisiológica entre as castas. Esse padrão também foi encontrado em *Chartergus metanotalis*, *Epipona tatua*, *polybia liliacea*, *Polybia rejecta* e *Polybia spinifex* (NOLL *et al.*, 2004), também em *Apoica flavissima* (SHIMA *et al.*, 1994), *Protonectarina sylveirae* (SHIMA *et al.*, 1996a), *Polybia dimidiata* (SHIMA *et al.*, 1996b), *Po. scutellaris*, *Po. paulista* e *Po. occidentalis* (NOLL & ZUCCHI, 2000), *Agelaia vicina* (SAKAGAMI *et al.*, 1996), *Ag. pallipes* e *Ag. multipicta* (NOLL *et al.*, 1997). O padrão C, associado à presença das fêmeas intermediárias não foi encontrado em *Astaloeca ujhelyii*, *Chartergus metanotalis*, *Clypearia sulcata*, *Epipona tatua*, *Metapolybia aztecoides*, *Polybia liliácea*, *Po. rejecta*, *Po. spinifex*, e *Synoeca surinama* (NOLL *et al.*, 2004), *Protonectarina sylveirae* (SHIMA *et al.*, 1996a), *Polybia dimidiata* (SHIMA *et al.*, 1996b), *Po. scutellaris* e *Po. paulista* (NOLL & ZUCCHI, 2000) e *Chartergus globiventris* (NOLL & ZUCCHI, 2002). Em *Polybia (T.) ignobilis*, as intermediárias foram encontradas em todas as fases do ciclo colônia e todos os 4 estágios de desenvolvimento ovariano (Figura3) foram encontrados (Tabela, 6).

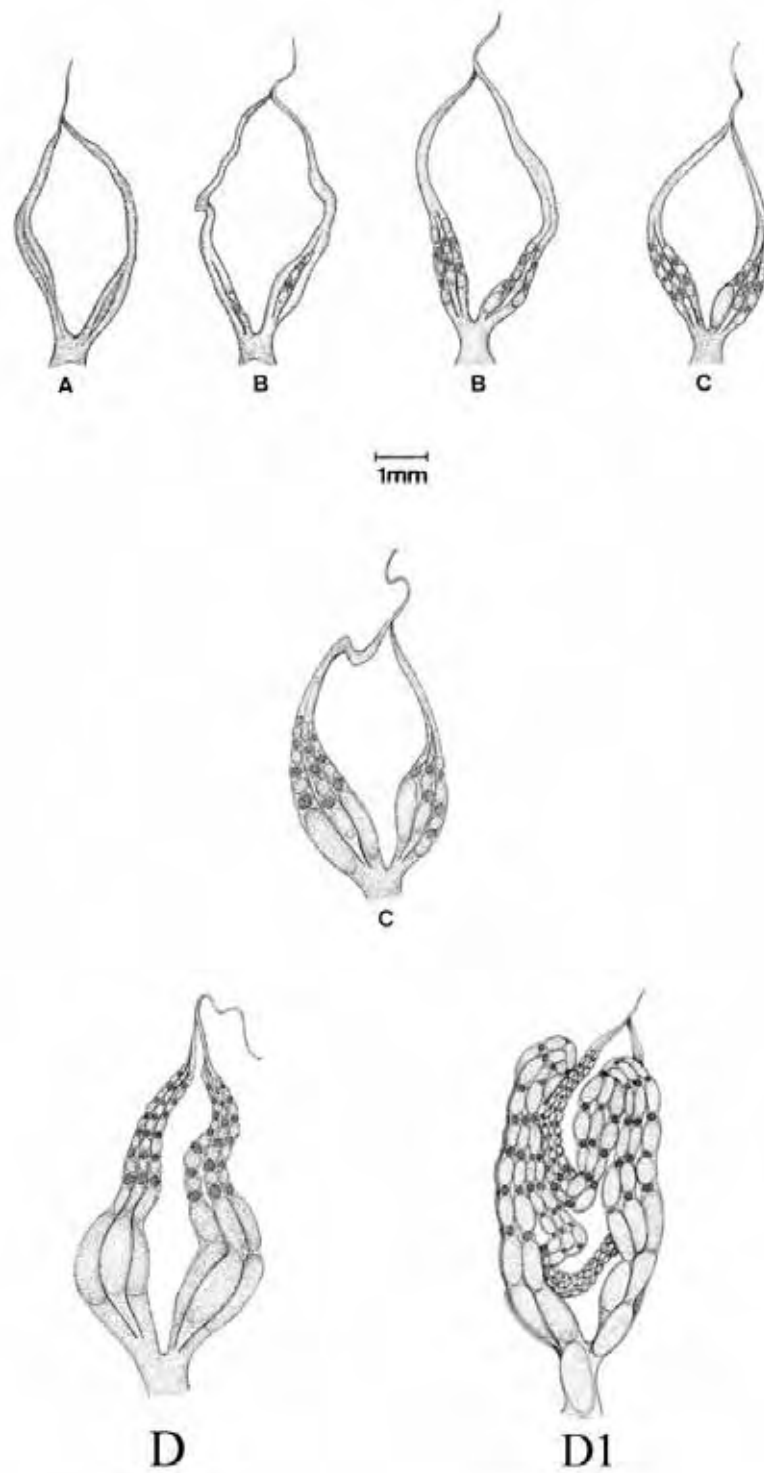


Figura 3. Diferentes padrões ovarianos encontrados nas análises de desenvolvimento ovariano de *Polybia (T.) ignobilis*.

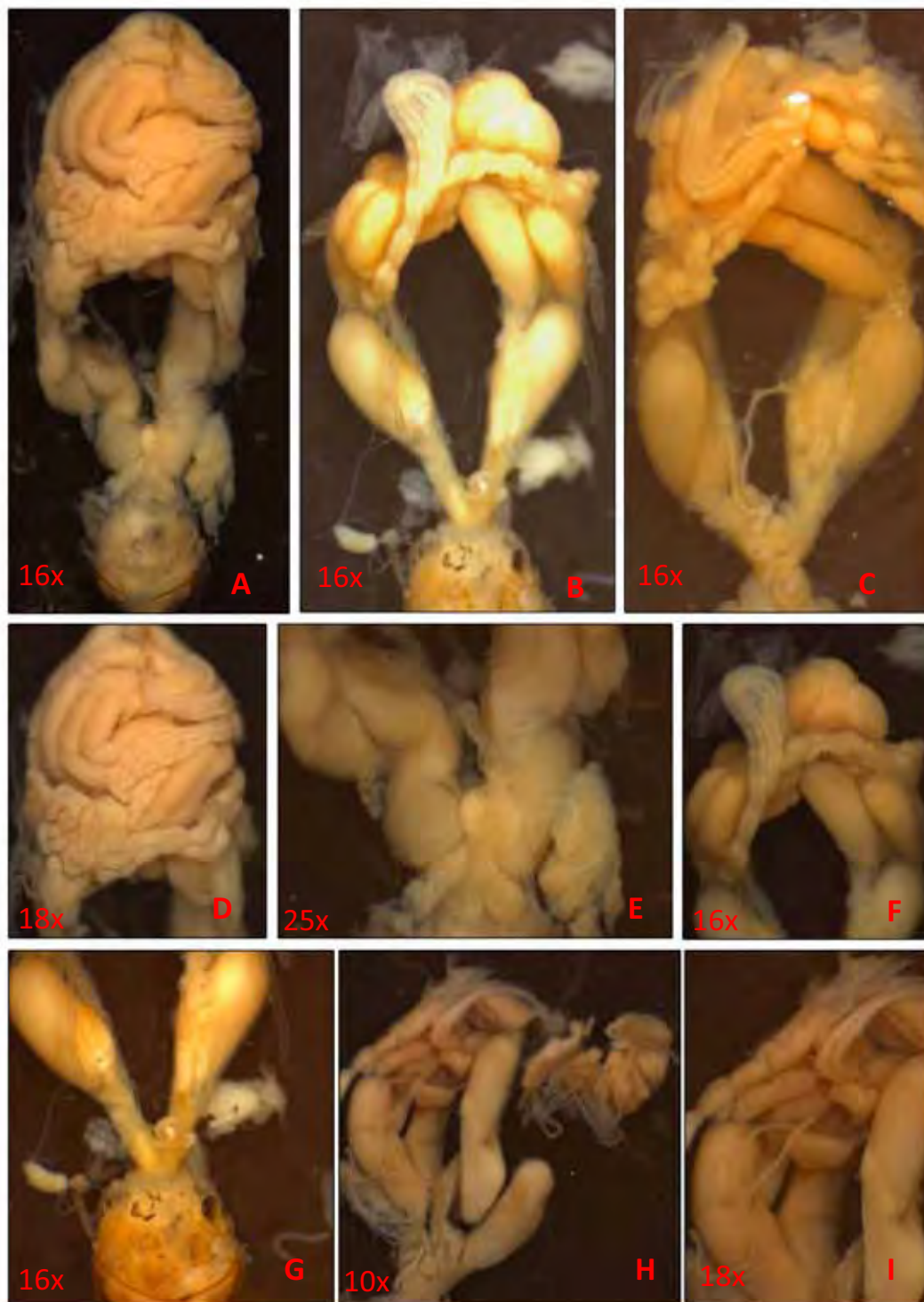


Figura 4. Diferentes padrões ovarianos encontrados nas análises de desenvolvimento ovariano de *Polybia (T.) ignobilis*. A, D e E - Ovário tipo D1, típico da colônia 60; B, C, F e G - Ovário típico encontrado na colônia 70; H e I - Ovário típico da colônia 54.

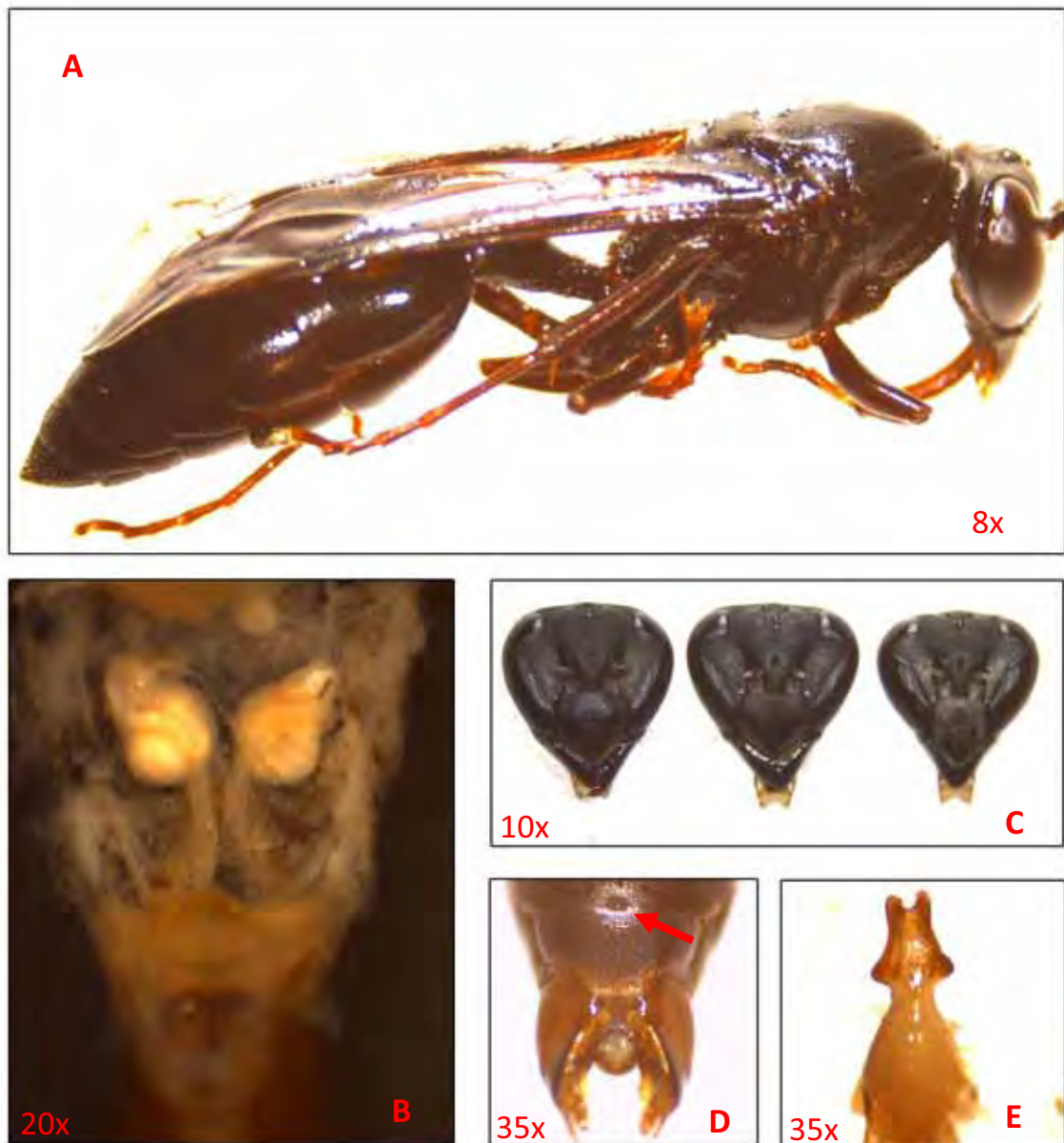


Figura 5. Macho de *Polybia (Trychothorax) ignobilis*. A – Aspecto geral do macho, pode-se perceber que o metassoma tem 7 segmentos enquanto as fêmeas apenas 6; B – Testículos; C - Comparação entre a cabeça de uma rainha (Esquerda), operária (Centro) e macho (Direita), é nítida a diferença, na qual a cabeça do macho é menor, principalmente no DmI; D – Vista ventral do último segmento do macho mostrando saliência típica (seta) e parâmeros; E – Vista dorsal do Aedeagus.

Assim como em *P. (T.) ignobilis*, outras espécies apresentaram todos os 4 tipos de padrões ovarianos (mas a inseminação sempre associada apenas ao padrão tipo D). Essas espécies incluem *Angiopolybia pallens*, *Charterginus fulvus*, *Leipomeles dorsata* e *Nectarinella championi* (NOLL *et al.*, 2004). O mesmo padrão implicando em ausência de diferenciação de castas foi encontrado em *Chartergellus communis* (MATEUS *et al.*, 1999),

Pseudopolybia vespiceps (SHIMA *et al.*, 1998), *Parachartergus smithii* (MATEUS *et al.*, 1997) e *Brachygastra lecheguana* (SHIMA *et al.*, 2000), *Protopolybia chartegoides* (FELLIPOTTI *et al.*, 2007) e *Parachartergus fraternus* (MATEUS *et al.*, 2004).

Através da análise da Tabela 6, pode-se perceber que a porcentagem de rainhas claramente diminui à medida que o ciclo progride. Principalmente na colônia 60 observa-se um número bastante reduzido de rainhas (0,17% do total de indivíduos). Essas rainhas remanescentes podem ter sido selecionadas por apresentarem desempenhos reprodutivos superiores às demais. Porém, como pode ter ocorrido essa seleção, o que acontece com as rainhas eliminadas? Qual o papel das operárias nesse controle? Quais as funções das intermediárias na colônia? As respostas não são certas, porém, são de fundamental importância para o entendimento do sistema de castas nos epiponines. Em espécies que apresentam intermediárias ao longo de todo o ciclo colônial, como é o caso de *Protopolybia exígua* (SIMÕES, 1977; NOLL *et al.*, 1996), *Brachygastra mellifica* (HASTING *et al.*, 1998) o controle exercido pelas rainhas sobre o desenvolvimento ovariano das operárias parece ser mais flexível. Em espécies com algum dimorfismo as intermediárias são mais similares às operárias como em *Protopolybia exígua*, *P. pumila*, *P. sedula* (SIMÕES, 1977, RICHARDS, 1978, NAUMANN, 1970), *Agelaia lobipleura melanogaster* (RICHARDS, 1978) e *Polybia emaciata* (HEBLING & LETIZIO, 1973; SHIMA *et al.*, 1996b). Entretanto, espécies nas quais as intermediárias são mais semelhantes às rainhas não há considerável dimorfismo entre as castas (*Brachygastra bilineolata*, *Pseudopolybia compressa*: RICHARDS, 1978). Neste contexto as operárias e intermediárias podem ser fundamentais no processo de eliminação de rainhas (WEST-EBERHARD, 1978; FORSYTH, 1998; HERMAN ET AL., 2000).

O papel das intermediárias na colônia gradativamente vem sendo definido. Há a hipótese de que as intermediárias sejam jovens rainhas ou rainhas não inseminadas como sugerido por Forsyth (1978), West-Eberhard (1978) e Strassmann *et al.* (2002). Contudo, para Simões (1977) as intermediárias de *P. exígua*, seriam operárias de pouca idade com ovários desenvolvidos sendo que seus ovos dariam origem a machos. Com o passar do tempo seus ovários se atrofiariam e suas funções no ninho seriam semelhantes às das operárias. Neste contexto essas fêmeas apresentam uma grande plasticidade comportamental. No caso de *Polybia (T.) ignobilis* as intermediárias são operárias com certo grau de desenvolvimento ovariano, como já discutido anteriormente, descartando a primeira hipótese. Para Naumann (1970) as intermediárias de *P. exígua* teriam a função primordial de postura de ovos tróficos, importantes na circulação de energia dentro da colônia.

A importância das intermediárias e das operárias no processo de seleção de rainhas foi confirmada por Mateus, (2005). Estudando *Parachartergus fraternus* o autor verificou agressões físicas de operárias e intermediárias em rainhas, principalmente na fase de pós-estabelecimento, essas agressões causaram sérios danos nas asas das rainhas, impossibilitando-as de voar, eliminando-as gradativamente pelas operárias e intermediárias. Contudo, em outras colônias as rainhas desapareceram sem a observação de agressões físicas. Isso mostra a importância das operárias e intermediárias no controle e manutenção da oligoginia cíclica e desta forma na manutenção do alto parentesco entre as fêmeas, visto que uma diminuição no número de rainhas antes da produção de novos indivíduos reprodutivos se aproxima do modelo clássico de monoginia proposto por Hamilton (1963, 1964a e b).

Segundo Simões (1977), as intermediárias estariam envolvidas na produção de machos e, de fato, essa característica pode representar um processo vantajoso uma vez que a postura de machos garante $\frac{1}{2}$ de similaridade gênica com a mãe e se esse macho copular com uma única rainha ou intermediária $\frac{1}{2}$ de seu genoma será investido nas gerações posteriores. Portanto, as intermediárias teriam um ganho em seu fitness reprodutivo ao botar ovos de machos. Contudo, Ratnieks (1988) mostrou que quando a frequência de cópula da rainha excede 2 há uma seleção do policiamento das operárias contra a produção de machos por outras da mesma casta. Nesse caso, o autor mostrou que as operárias são mais aparentadas aos seus irmãos produzidos pelas rainhas ($r=0,25$) que aos machos produzidos por operárias (um sobrinho ou filho de uma meia-irmã, $r<0,25$). Hastings *et al.* (1998) confirmou a hipótese acima, utilizando seqüências de microsátélites de DNA os autores verificaram que os machos de *Brachygastra mellifica* são produzidos pelas rainhas e não por intermediárias ou operárias. Além disso, verificaram que o grau de parentesco entre rainhas (0,66) é maior que para as operárias e intermediárias (0,23, sendo que esse valor é ainda maior ao previsto pela teoria da Kin Selection, que é de 0,16). As análises ainda mostraram que as rainhas, nessa espécie, copulam com apenas um macho, condição ideal em que a teoria de Hamilton foi elaborada. Nesse caso, o elevado grau de parentesco entre rainhas é mantido pela oligoginia cíclica que permite que novas rainhas sejam produzidas apenas quando o número de rainhas na colônia esteja bem reduzido. Outro dado interessante obtido neste trabalho foi que todos os machos foram produzidos pelas próprias colônias.

De acordo com alguns autores as operárias são as principais responsáveis pela eliminação das rainhas inviáveis da colônia (WEST-EBERHARD, 1978a, FORSYTH, 1978, HERMANN *et al.*, 2000, PLATT *et al.*, 2004), e isto estaria ligado ao envelhecimento das rainhas e, portanto, à diminuição da eficácia dos feromônios das mesmas sobre as operárias.

Mateus (2005) verificou competição entre rainhas através de oofagia diferencial, principalmente nas fases em que rainhas estavam sendo agredidas e eliminadas. Também observou competição pela postura de ovos entre rainhas e intermerdiárias na fase de estabelecimento.

Segundo Strassmann *et al.*, (2002) o número de operárias com certo grau de desenvolvimento ovariano tende a ser maior na fase em que a colônia tem menor número de rainhas. Os autores verificaram que em colônias nas quais as rainhas foram removidas, 86,8% das operárias puderam desenvolver seus ovários, enquanto que nas colônias não manipuladas o valor não passou de 15%. De fato, na colônia 60, na qual as rainhas representaram apenas 0,3% do total de fêmeas foi encontrado o maior número de intermediárias 85% (tipos ovarianos B e C) desenvolveram seus ovários, contudo, para *Polybia (T.) ignobilis* em todas as outras fases as fêmeas dominantes puderam apresentar, ao menos, um mínimo desenvolvimento ovariano.

Roseler & Roseler, (1989) em seu trabalho com *Polistes gallicus* atentam para o papel do ovário, mais bem desenvolvido nas fêmeas dominantes, como um produtor de substâncias que atuam em outros órgãos como a *corpora allata* e que desencadeariam a liberação de doses de hormônios promotores de alterações comportamentais nas dominantes, tornando-as mais agressivas e mais reprodutivamente superiores.

Outra característica interessante observada nas rainhas das colônias 54, 70 e 60 S01 e 74 é que todas elas apresentaram Glândula de Richards bem desenvolvida e com secreção evidente (Figura 6 e 7), ao passo que nenhuma outra categoria de fêmea apresentou tal característica fisiológica. O papel da secreção da glândula de Richards nas operárias é bem definido e tem a função primordial de marcar locais específicos durante o processo de enxameagem pelas fêmeas escoteiras realizado, em geral, pelas fêmeas mais velhas e mais experientes nas atividades de campo (NAUMANN, 1975; JEANNE, 1975; JEANNE, 1981). Contudo, a função dessa secreção nas rainhas é extremamente obscura e mais estudos sobre a morfologia dessa glândula e composição química de suas secreções podem trazer informações valiosas para o entendimento do sistema de castas nos Epiponini.

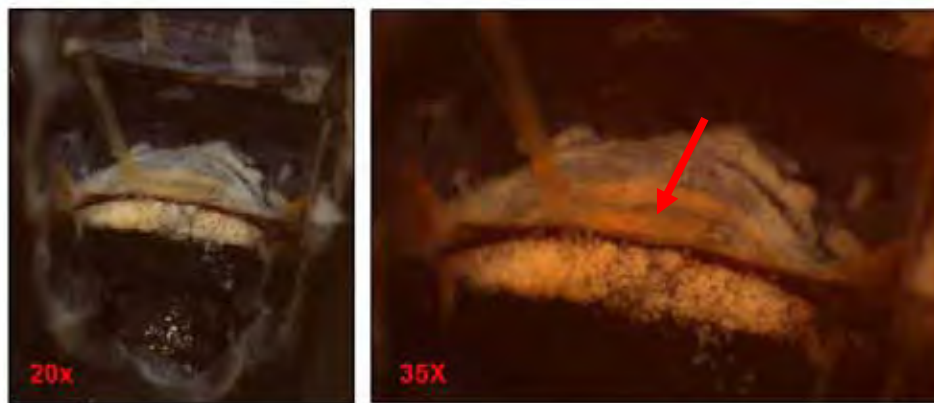


Figura 6. Aspecto geral da Glândula de Richards das rainhas de *P. (T.) ignobilis* (exceto colônia 62), evidenciando a secreção amarelada (seta).

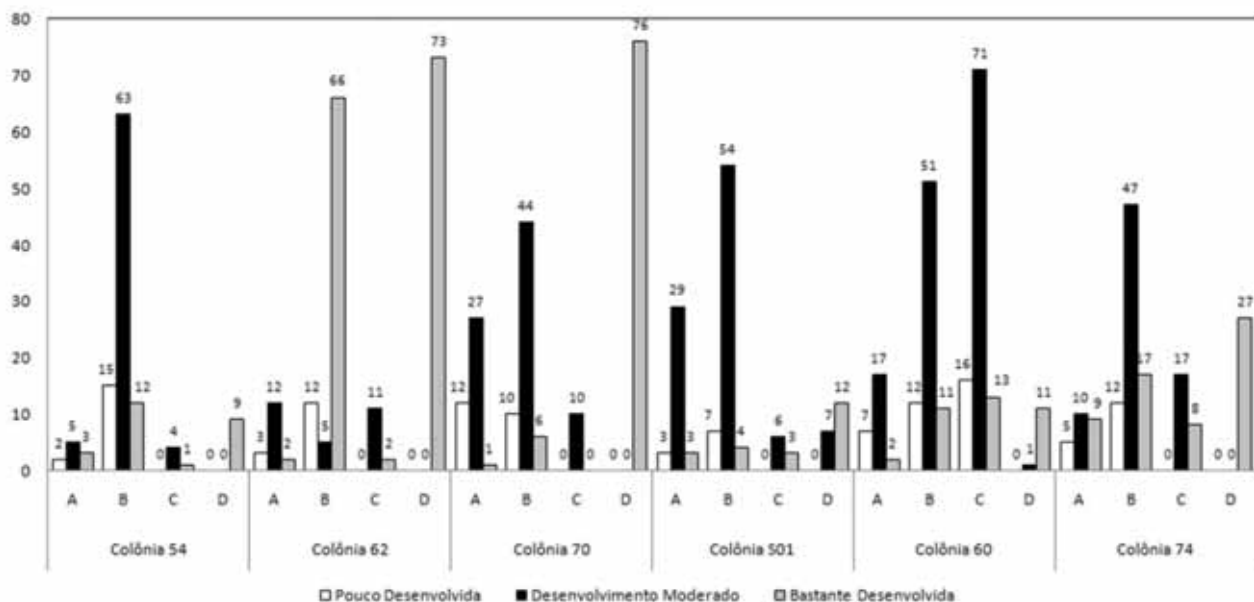


Figura 7. Padrões de desenvolvimento da glândula de Richard's nas fêmeas de *Polybia (T.) ignobilis*.

Assim como em Shima (1991), neste estudo somente as rainhas apresentaram secreção nos reservatórios da glândula de Richard's. A secreção como mostra a Figura 6 era amarelada ou alaranjada. Ao contrário, Richards (1978b) não notou nenhuma secreção nas rainhas de *Polybia (Hypopolybia) quadricincta*, porém, em algumas operárias um material gelatinoso sobre a membrana intersegmental unindo o quarto com o quinto esternito estava presente, mas não muito distinto (SHIMA, 1991).

Richards (1971) relata que a secreção do quinto esternito pode ser, provavelmente a substância de rainha e, de acordo com Maule-Rodrigues *et al.* (1981), a secreção da glândula de *P. (T.) crysothorax* está associada ao desenvolvimento dos ovários e, portanto, à função

reprodutiva das rainhas pertencentes a uma colônia em fase de enxameagem (SHIMA, 1991). Em *P. (T.) ignobilis*, apenas as rainhas apresentaram essa característica (glândula de Richards bastante desenvolvida e secreção evidente), e foi verificada em todas as colônias analisadas, exceto na colônia 62 e, portanto, não sendo exclusivamente uma característica das rainhas da fase de enxameagem. A glândula do 5º esternito é um diferenciador de castas e foi descrito em várias espécies de *Polybia*, *Protopolybia*, *Brachygastera*, *Apoica* e outros (SHIMA, 1991).

A Figura 7 mostra que o desenvolvimento máximo da Glândula de Richard's está associado principalmente às rainhas, enquanto que as operárias e intermediárias mantêm em média um desenvolvimento moderado.

Um outro padrão de desenvolvimento da glândula de Richard's foi observado por Oliveira *et al.* (2007). Neste estudo os autores verificaram que a glândula de Richard's estava mais bem desenvolvida em operárias que nas rainhas, uma vez que as operárias selecionam os locais onde serão estabelecidos novos ninhos através de uma trilha ferormonal (FORSYTH, 1981; JEANNE, 1981). Contudo, o mais interessante foi que os autores verificaram também, que em colônias pequenas de *Polybia bistriata* (<100 fêmeas) as rainhas apresentaram menor desenvolvimento glandular quando comparadas com rainhas presentes em colônias grandes (>200 fêmeas). Em *Polybia (T.) ignobilis*, independente da fase analisada o desenvolvimento da glândula de Richards foi notavelmente superior nas rainhas. A natureza de tal fato ainda é desconhecida, porém, pode estar relacionado aos eventos de seleção de rainhas em colônias mais velhas (WEST-EBERHARD, 1978).

4.3 Idade Relativa e Tecido Gorduroso

Os padrões encontrados quanto à pigmentação progressiva dos esternitos foram os seguintes: AM (amarelo claro), MC (marrom claro), ME (marrom escuro), PE (preto) e essa sequência indica progressivamente indivíduos mais jovens até os mais velhos (Figura 8).

Quanto ao tecido gorduroso foi observada sua porcentagem relativa que variou de: 0 - 25%, 25 - 50%, 50 - 75% e 75 - 100%.

A colônia 54, na fase de enxame, apresentou indivíduos predominantemente mais jovens sendo que 84% das operárias tinham pigmentação do apódema transversal do 4º esternito AM e MC (Figura 9A e 9B). Já as rainhas foram os indivíduos mais velhos com 78% dos indivíduos apresentando a coloração ME. Shima (1991) estudou uma colônia de *P. (T.) ignobilis* em plena enxameagem, contudo, quanto à pigmentação progressiva do apódema transversal foram observadas fêmeas com todos os padrões de Pigmentação (AM, MC, ME e PE), mas as fêmeas jovens foram predominantes. Já para o padrão alar Shima (1991) observou que a grande maioria das fêmeas de *P. (T.) ignobilis* estavam com pouco ou nenhum desgaste, confirmando novamente a predominância de fêmeas jovens. As rainhas estavam entre os indivíduos mais velhos. Já em *P. (T.) sericea*, o mesmo padrão foi encontrado, com operárias com pigmentação mais clara, e, portanto, mais jovens e com rainhas mais velhas (SHIMA, 1991). Ressalta-se que a colônia de *P. (T.) sericea* encontrava-se também na fase de enxame.

Quanto ao tecido gorduroso, em ambas as análises, não foram encontradas fêmeas com o padrão 0-25% entre os indivíduos de *P. (T.) ignobilis* (Figura 10 A,B,C,D) na fase de enxameagem, entretanto, em *P. (T.) sericea* foram observadas fêmeas com o conteúdo mínimo de tecido gorduroso (SHIMA, 1991). As rainhas de *P. (T.) ignobilis* predominantemente armazenam maiores quantidades de tecido gorduroso, sendo que 100% delas apresentaram valores variando entre 50-75% e 75-100% (Figura 9 D). O Mesmo padrão foi observado para *B. lecheguana* (Shima, 1991), *P. (T.) sericea* (SHIMA, 1991); *P. vespiceps*, *P. dimidiata*, *P. sylverae* e *P. flavissima* (Shima-Machado, 1983) e para a mesma espécie no estudo de Shima (1991). As maiores porcentagens de tecido gorduroso nas rainhas deve-se à menores gastos energéticos em suas atividades e também adaptações para as rainhas sobreviverem em condições desfavoráveis (inverno) (Shima, 1991).

Pela análise da figura 8 pode-se observar que não ocorrem indivíduos com pigmentação amarelada ou pálida em nenhum dos grupos de fêmeas na colônia 62.

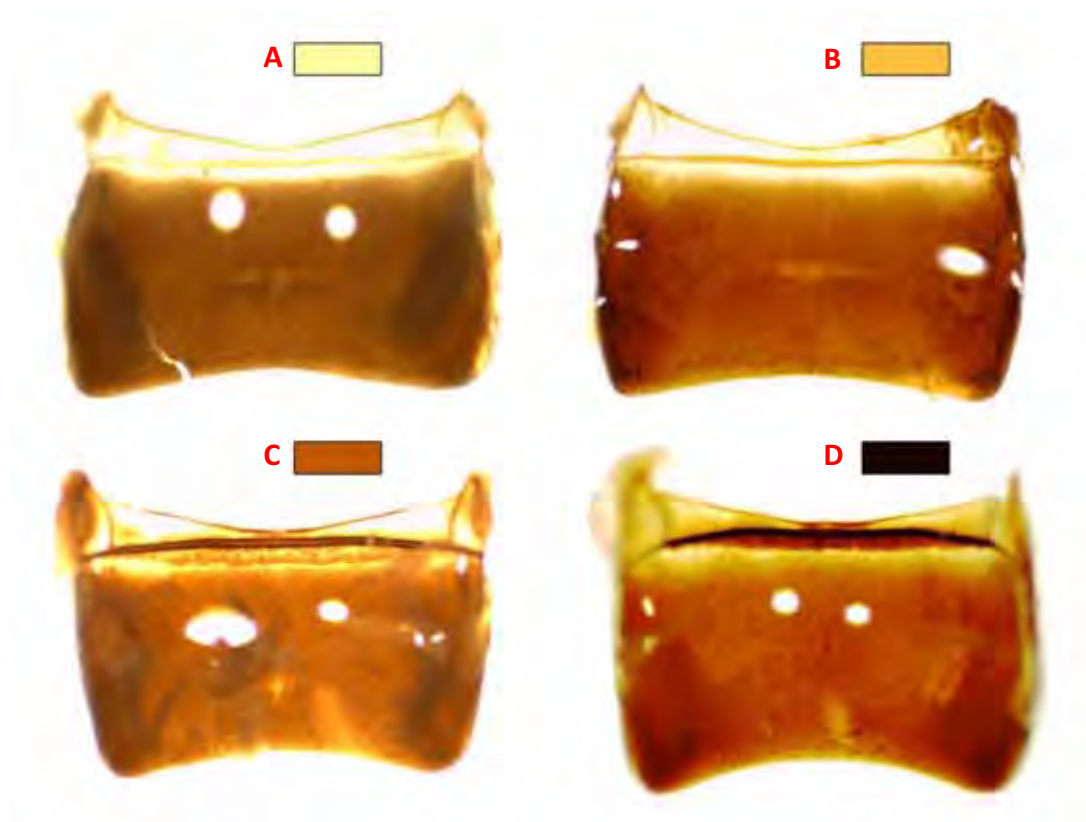


Figura 8. Padrões de coloração do 4º esternito encontrado em *Polybia (T.) ignobilis*. A - AM (amarelado, pálido), B - MC (Marron claro), C - ME (Marron escuro) e D - PE (Preto). As cores nos retângulos foram obtidas com a ferramenta eye-dropper no software Photoshop CS3. Elas representam as cores exatas encontradas na linha transversal do 4º esternito.

Pela análise da figura 9A e 9B entre as operárias (incluindo aquelas com padrão ovariano A e B) 31% (n=31) apresentavam o padrão MC, 47% (n=47) o padrão ME e 22% (n=22) o padrão PE. Portanto, 69% (n=69) das operárias analisadas podem ser classificadas como mais velhas. Quanto às rainhas 6,8% (n=5) apresentaram pigmentação MC enquanto que 80,8% (n=59) o padrão ME e 12,4% (n=9) o padrão PE evidenciando, novamente, uma população fêmeas mais velhas representando cerca de 93,2% (n=68) da população de rainhas. Entre as intermediárias 53,8% (n=7) apresentaram coloração MC, 38,4% (n=5) ME e 7,8% (n=1) o padrão PE. Percebe-se que entre as intermediárias há um maior equilíbrio, porém, há o predomínio de indivíduos mais jovens 53,8% (n=7).

Em linhas gerais, a colônia 62 apresentou uma população composta por indivíduos mais velhos, havendo predominância do padrão ME 59,6% (n=111) seguido pelo padrão MC com 23,1% (n=43) e finalmente PE 17,3% (n=32).

Segundo Noll (1995) a fase de estabelecimento, a qual se encontrava a colônia 62, apresenta características semelhantes às de enxameagem quanto à idade e a composição da população colonial, porém, observa-se um padrão diferente na colônia 62, um maior número

de fêmeas velhas. Portanto, de acordo com Noll (1995) a colônia 62 teria sido originada através de migração forçada. Contudo, Noll (1995) utilizou as asas como forma de estimar a idade relativa diferindo desta análise. Deve-se ainda lembrar que a colônia 62 foi coletada no mês de novembro, período de enxameio natural dos Epiponini. Mateus *et al.*, (2004) relatam uma colônia coletada no mês de fevereiro a qual apresentou predominância de indivíduos velhos e argumentou que se tratava de enxame natural, pois, em caso de absconding haveria a ocorrência de indivíduos de todas as idades. Contudo, nessa colônia constatou-se apenas indivíduos com esternitos marrom escuros e pretos, já na colônia 62 apenas indivíduos com esternitos AM não foram registrados. Além disso, a colônia 70, também na fase de estabelecimento, apresentou predomínio de indivíduos mais jovens. Fica difícil afirmar com certeza que a colônia 62 tenha sido formada a partir de migração forçada, porém, há indícios que isso possa ter ocorrido.

A Figura 10D, permite visualizar que a maior parte das rainhas (74%, n=54) apresentou alta quantidade de tecido gorduroso (75 – 100%), e isso é coerente visto que as rainhas não saem da colônia sendo responsáveis pela postura dos ovos não havendo extremos gastos energéticos, porém, a maioria delas revelou o padrão de pigmentação ME (Figura 9B), dessa forma constituindo-se fêmeas relativamente mais velhas.

Entretanto, apesar da idade já avançada, essas fêmeas provavelmente foram capazes de manter a dominância reprodutiva da colônia, visto que ainda apresentavam elevada quantidade de tecido gorduroso e desenvolvimento ovariano consistente, não sendo verificada a presença de oócitos em regressão. Em relação às intermediárias da colônia 62 (Figura 10C), a maior parte delas apresentou elevada porcentagem de tecido gorduroso, sendo que a maioria era de fêmeas jovens com padrão de pigmentação MC (Figura 9C).

Na colônia 70, também na fase de estabelecimento, houve predomínio de indivíduos mais jovens entre as operárias (68% AM e MC contra 32% ME), contudo rainhas mais velhas foram predominantes (97% apresentaram coloração ME e PE) (Figura 9). Novamente as rainhas armazenaram maior quantidade de tecido gorduroso (39,4% armazenaram entre 50-75% de tecido gorduroso e 60,6% entre 75-100%) (Figura 10D). A maioria das intermediárias apresentou coloração do apódema transversal do 4º esternito MC e quantidade de tecido gorduroso variando entre 50-75 (Figura 9C e 10C).

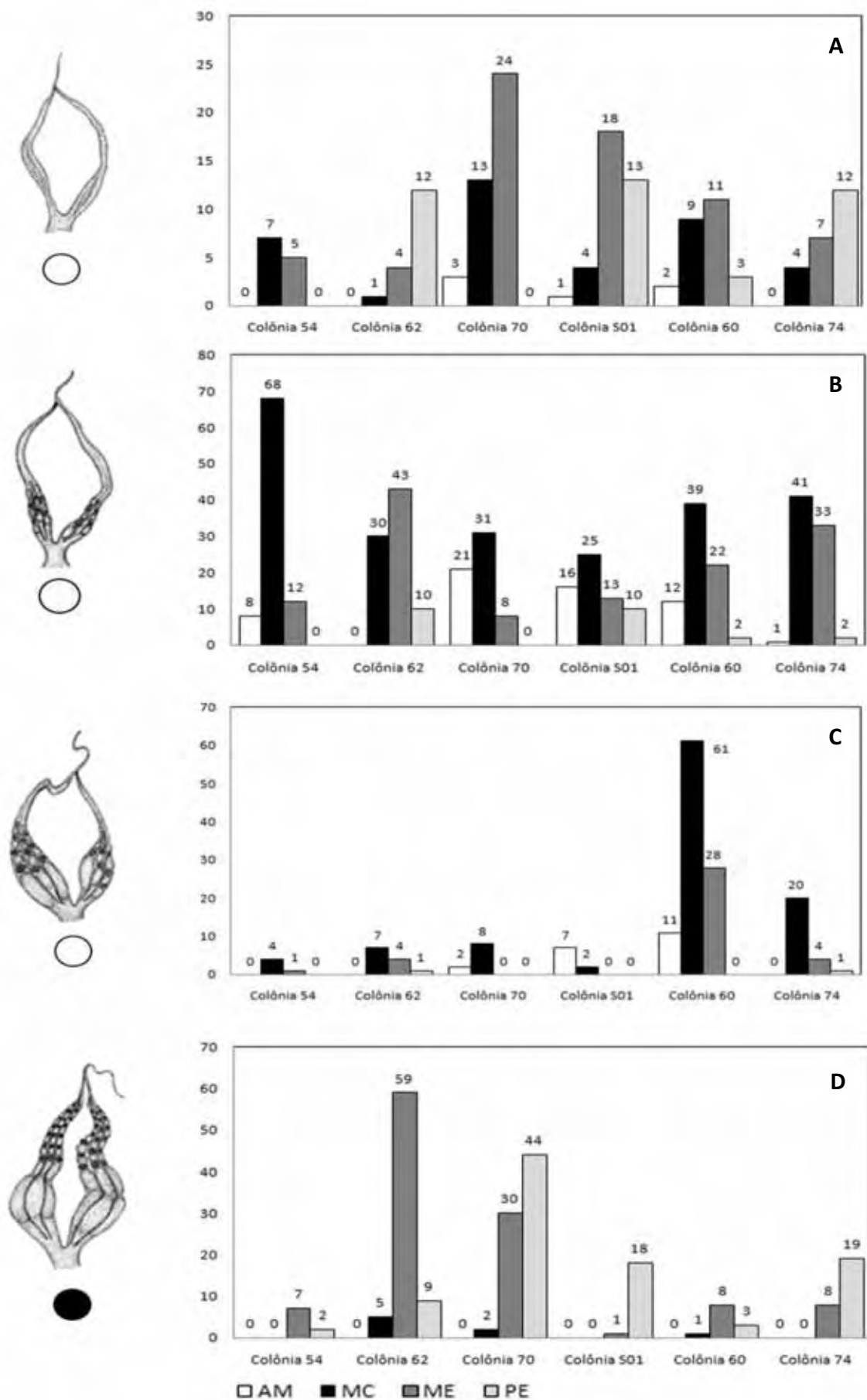


Figura 9. Análise da idade relativa das colônias analisadas de *Polybia (T.) ignobilis*. A – Operárias (ovário tipo A); B – Operárias (ovário tipo B); C – Intermediárias (ovário tipo C) e D – Rainhas (ovário tipo D). Círculos cheios representam as fêmeas inseminadas (rainhas).

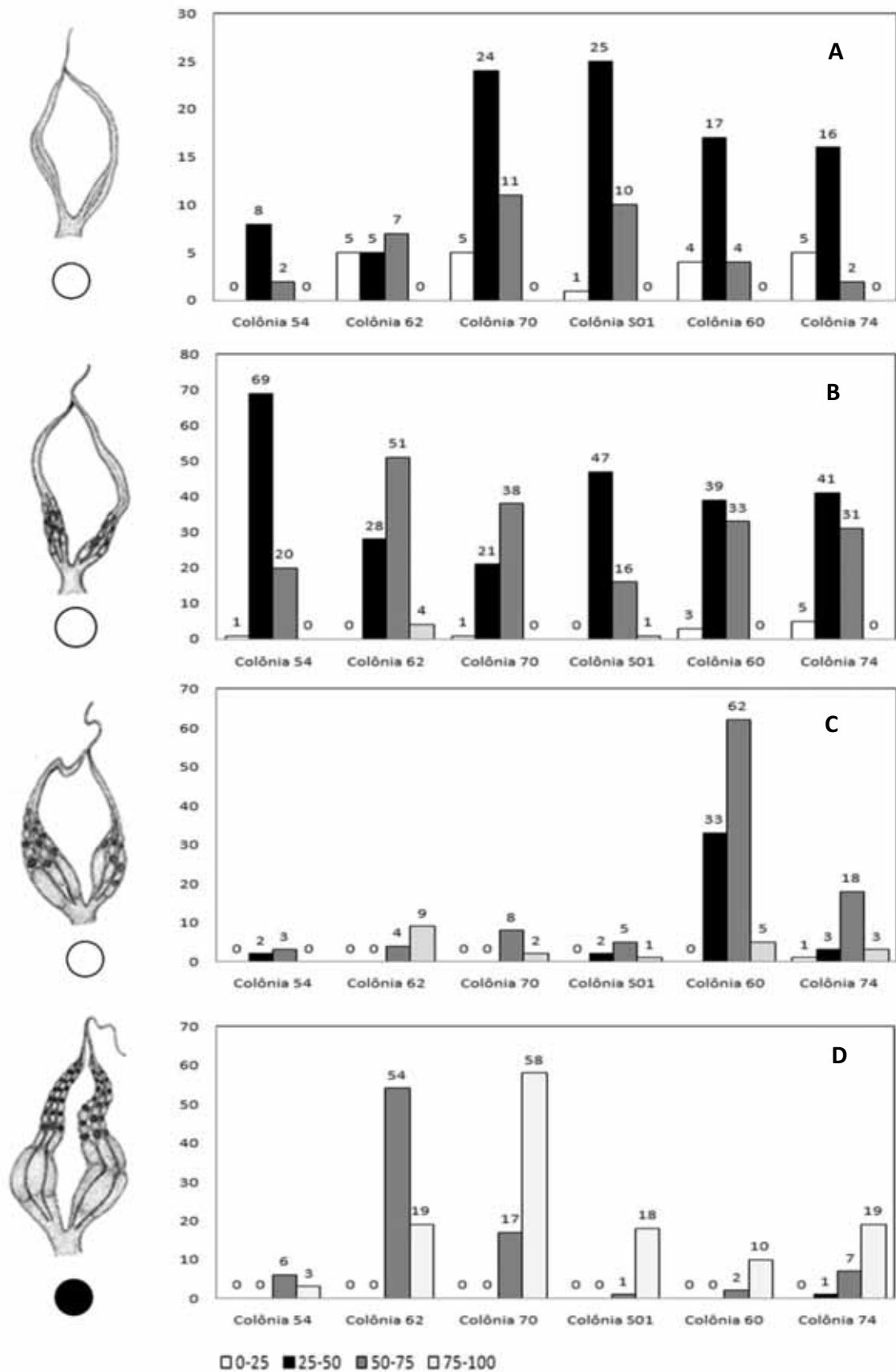


Figura 10. Análise do tecido gorduroso das colônias analisadas de *Polybia (T.) ignobilis*. A – Operárias (ovário tipo A); B – Operárias (ovário tipo B); C – Intermediárias (ovário tipo C) e D – Rainhas (ovário tipo D). Círculos cheios representam as fêmeas inseminadas (rainhas).

Na colônia S01 houve predomínio de indivíduos mais velhos (AM e MC 47% e ME e PE 53%) (Figura 9). Entre as operárias 46 % (n=46) apresentaram a coloração AM e MC, e, portanto, mais jovens e 54% (n=54) a coloração ME e PE, sendo estas mais velhas (Figura 9A e 9B). A totalidade das fêmeas intermediárias apresentou coloração AM e MC, sendo indivíduos mais jovens (Figura 9C). As rainhas, por sua vez, foram os indivíduos mais velhos e apresentaram somente as colorações ME e PE (5,3% e 94,7%, respectivamente) e alta quantidade de tecido gorduroso (5,3% de 50-75% e 94,7% entre 75-100%) (Figuras 9D e 10D). A colônia S01 apresentava 5 favos com ovos, larvas e muitas pupas. Foi coletada em março de 2007, e apresentava mecônio na base das células. As características citadas acima conferem com as da fase madura de produção de fêmeas, contudo, nessa colônia, foram encontrados machos. Em *Parachartergus fraternus*, Mateus *et al.* (2004) analisaram uma colônia com um padrão similar ao encontrado em S01, os machos foram produzidos na primeira geração, contudo, os machos foram produzidos sincronicamente com o aumento do número das intermediárias, fato este que parece também coincidir com a colônia 60, na qual o maior número de intermediárias e de machos foram encontrados. Esses dados revelam que ainda falta um consenso no que se refere a definição das fases nos Epiponini, em especial no período em que os machos são produzidos (RICHARDS, 1978, STRASSMANN *et al.*, 2002)

As Figuras 9A e 9B indicam que a população de operárias na colônia 60 é composta predominantemente por indivíduos mais jovens (AM e MC 62% e ME e PE 38%), enquanto que as rainhas por indivíduos mais velhos (n=8, 67%) (Figura 9D). Em relação às intermediárias a maioria apresentou pigmentação MC, portanto, sendo indivíduos mais jovens, e ao mesmo tempo a maioria apresentou quantidade de tecido gorduroso alta (62% - 50-75) (Figuras 9C e 10D). Talvez os indivíduos mais jovens passem algum tempo dentro da colônia realizando tarefas intranidais até tornarem-se maduros para coleta de campo. Tarefas intra-coloniais demandam menor gasto energético, tornando possível que as intermediárias armazenem tecido gorduroso e desenvolvam o ovário. Tal hipótese é especulativa e requiere minuciosos estudos bionômicos.

Finalmente, as rainhas apresentaram maior quantidade de tecido gorduroso, sendo que 83% (n=10) apresentaram valores entre 75-100%, e de fato, a análise do desenvolvimento ovariano mostrou que nessa fase as rainhas apresentaram ovários mais bem desenvolvidos (Figura 10D). Mateus *et al.*, (2004) estudou duas colônias na fase de produção de machos em *Parachartergus fraternus*, em uma delas o padrão foi similar ao encontrado na colônia 60. Em Mateus *et al.*, (2004) as operárias estavam entre os indivíduos mais jovens da colônia, assim como as rainhas sugerindo que um enxame havia sido recentemente produzido. O

mesmo padrão foi encontrado para a colônia 60 de *P. (T.) ignobilis* apenas para as operárias. As rainhas, por sua vez, eram em sua maioria velhas (Figura 9D) indicando que a fase em que se encontrava a colônia 60 representam claramente a fase oligogínica, antes da produção de rainhas jovens.

A colônia 74 apresentou características semelhantes a S01, na qual houve predomínio de indivíduos mais velhos (43,5% AM e MC e 56,5% ME e PE) (Figuras 9). Em relação às intermediárias 80% (n=20) apresentaram o padrão de coloração AM, 16%(n=4) o padrão ME e 4%(n=1) o padrão PE (Figura 9C). As rainhas novamente estavam entre os indivíduos mais velhos da colônia (33% ME e 67%PE) (Figura 9D). Em relação às rainhas 3,7% apresentaram moderada quantidade de tecido gorduroso (entre 25-50%), 26% apresentaram de 50-75% e 70,3% possuíam grande quantidade de tecido gorduroso (entre 75-100%) (Figura 10D).

4.4 Análises Morfométricas das colônias analisadas

Em busca de um valor adaptativo para os diferentes graus de dimorfismo encontrado entre as castas, diferenças entre rainhas e operárias têm sido estudadas. Enquanto que em alguns insetos eussociais as castas diferem apenas em padrões comportamentais, em outros as diferenças comportamentais são acompanhadas por diferenças de tamanho e especializações morfológicas (OSTER & WILSON, 1978). A diferenciação de castas nas vespas sociais é certamente mais conspícua nos Vespinae, especialmente no gênero *Vespula* (BLACKITH, 1958; SPRADBERY, 1972). Nos Polistinae, essas diferenças além de serem menos evidentes são muito mais complexas (MATEUS *et al.*, 2004 e SHIMA *et al.*, 1994).

As tabelas 7 e 8 representam os resultados obtidos a partir da análise de variância para cada colônia analisada, utilizando-se operárias, intermediárias e rainhas.

A tabela 7 apresenta os resultados obtidos para as colônias 54, 62 e 70. Em relação à colônia 54 pode-se observar que houve diferenças morfológicas significativas entre operárias e intermediárias, onde as últimas foram menores para as variáveis DmI e CM enquanto que em todas as outras variáveis as operárias não diferiram estatisticamente das intermediárias. As rainhas foram maiores que as operárias e intermediárias nas variáveis DmI, CM, LM, CT₁, AT₃ e AT₄. Em LT₃ e LT₄ não houve diferença significativa entre intermediárias e rainhas. Não foram registradas diferenças significativas entre os grupos para as variáveis LC, CME, ABT₁, AAT₁ e CA. Shima (1991) analisou uma única colônia de *Polybia (T.) ignobilis* na fase de Enxame e verificou que as rainhas são maiores, contudo também não encontrou diferenças significativas na variável LC.

Já para a colônia 62 para todos os caracteres houve diferenças significativas. O teste de comparação de médias com o ajuste de Bonferroni revelou que não há diferenças significativas entre operárias e intermediárias, com exceção do comprimento do mesoscuto (CM). As rainhas foram significativamente maiores em todas as variáveis, contudo para a variável CT₁ não houve diferenças significativas entre rainhas e intermediárias.

Tabela 7. Resultados da análise de variância para as 3 classes de fêmeas de *Polybia (Trychothorax) ignobilis*.

One-Way ANOVA															
Variáveis	Médias±SD			One-Way ANOVA		Médias±SD			One-Way ANOVA		Médias±SD			One-Way ANOVA	
	Rainhas (n=100)	Operárias (n=5)	Intermediárias (n=9)	F	P	Rainhas (n=100)	Operárias (n=73)	Intermediárias (n=13)	F	P	Rainhas (n=76)	Operárias (n=100)	Intermediárias (n=10)	F	P
Colônia 54 (Enxame)															
Cabeça															
LC	3.03±0.03	3.00±0.08	2.96±0.03	2.14 ^a	0.12	3.16±0.06	3.09±0.08	3.09±0.08	18.62 ^{b,c}	<0.001***	3.02±0.04	3.03±0.05	2.98±0.04	3.61 ^c	0.03*
DmI	1.33±0.03	1.25±0.06	1.21±0.02	24.61 ^{c,d}	<0.001***	1.29±0.05	1.25±0.06	1.22±0.03	15.98 ^{b,c}	<0.001***	1.32±0.03	1.25±0.04	1.22±0.04	81.92 ^{c,d}	<0.001***
Mesossoma															
CM	2.41±0.04	2.28±0.09	2.14±0.07	17.84 ^{c,d}	<0.001***	2.49±0.10	2.45±0.14	2.34±0.09	8.97 ^{c,d}	<0.001***	2.41±0.05	2.30±0.08	2.23±0.07	64.43 ^{c,d}	<0.001***
LM	2.29±0.07	2.13±0.22	2.08±0.03	5.02 ^{b,d}	0.01**	2.47±0.08	2.27±0.05	2.24±0.04	170.87 ^{b,c}	<0.001***	2.32±0.04	2.16±0.07	2.11±0.07	149.20 ^{c,d}	<0.001***
CME	4.82±0.04	4.53±0.43	4.50±0.07	0.53 ^a	0.59	5.17±0.21	4.92±0.21	4.91±0.19	32.11 ^{b,c}	<0.001***	4.79±0.09	4.56±0.14	4.50±0.08	85.90 ^{b,c}	<0.001***
Metassoma															
ABT ₁	0.45±0.03	0.43±0.07	0.41±0.02	1.73 ^a	0.18	0.48±0.55	0.33±0.04	0.33±0.04	91.58 ^{b,c}	<0.001***	0.46±0.03	0.42±0.03	0.41±0.02	27.06 ^{b,c}	<0.001***
AAT ₁	0.90±0.04	0.87±0.17	0.84±0.0	0.71 ^a	0.49	0.82±0.09	0.71±0.07	0.72±0.06	55.67 ^{b,c}	<0.001***	0.99±0.06	0.87±0.04	0.86±0.05	124.33 ^{b,c}	<0.001***
CT ₁	2.67±0.05	2.47±0.26	2.36±0.12	5.27 ^{b,d}	0.01**	2.68±0.24	2.51±0.12	2.50±0.06	74.55 ^e	<0.001***	2.64±0.08	2.50±0.08	2.46±0.11	71.69 ^{b,c}	<0.001***
LT ₃	5.23±0.13	4.69±0.32	4.75±0.04	5.80 ^e	<0.001***	5.67±0.38	5.09±0.24	5.03±0.12	181.12 ^{b,c}	<0.001***	5.39±0.12	4.89±0.16	4.73±0.15	268.32 ^{c,d}	<0.001***
AT ₃	2.07±0.03	1.85±0.28	1.78±0.03	7.01 ^{b,d}	<0.001***	2.18±0.10	1.89±0.12	1.85±0.06	141.20 ^{b,c}	<0.001***	2.17±0.07	1.88±0.31	1.83±0.05	78.56 ^{b,c}	<0.001***
LT ₄	4.90±0.15	4.37±0.31	4.42±0.08	5.31 ^e	0.01**	5.25±0.37	4.69±0.19	4.63±0.12	60.96 ^{b,c}	<0.001***	5.06±0.12	4.57±0.14	4.47±0.10	319.86 ^{c,d}	<0.001***
AT ₄	1.78±0.11	1.49±0.05	1.45±0.04	111.45 ^{b,d}	<0.001***	1.83±0.07	1.53±0.08	1.49±0.05	347.82 ^{b,c}	<0.001***	1.81±0.07	1.53±0.09	1.50±0.05	311.33 ^{b,c}	<0.001***
Asa															
CA	4.24±0.04	4.25±0.12	4.32±0.05	0.83 ^a	0.44	4.54±0.12	4.46±0.15	4.37±0.09	11.84 ^{b,c}	<0.001***	4.39±0.10	4.27±0.13	4.25±0.11	24.09 ^{b,c}	<0.001***

a – sem distinção entre os grupo

b – não há diferença entre operárias e intermediárias

c – operárias e intermediárias diferem entre si

d – rainhas maiores que operárias e intermediárias

e – diferença significativo somente entre rainhas e operárias

Tabela 8. Resultados da análise de variância para as 3 classes de fêmeas de *Polybia (Trychothorax) ignobilis*.

One-Way ANOVA											
Variáveis	Médias±SD			One-Way ANOVA			Médias±SD			One-Way ANOVA	
	Rainhas (n=19)	Operárias (n=100)	Intermediárias (n=9)	F	P		Rainhas (n=12)	Operárias (n=100)	Intermediárias (n=100)	F	P
Colônia S01 (Pré-enxameagem/produção de machos)											
Cabeça											
LC	3.07±0.04	3.05±0.06	3.06±0.03	0.66 ^a	0.52		3.11±0.04	3.09±0.07	3.03±0.08	14.82 ^f	<0.001***
Dml	1.37±0.02	1.27±0.04	1.30±0.04	46.92 ^{b,c}	<0.001***		1.36±0.03	1.29±0.04	1.26±0.04	32.06 ^{c,d}	<0.001***
Mesossoma											
CM	2.53±0.07	2.39±0.09	2.45±0.04	19.52 ^e	<0.001***		2.45±0.07	2.31±0.09	2.26±0.09	21.59 ^{c,d}	<0.001***
LM	2.40±0.08	2.19±0.06	2.26±0.07	88.54 ^{c,d}	<0.001***		2.51±0.06	2.25±0.08	2.18±0.09	75.60 ^{c,d}	<0.001***
CME	4.94±0.16	4.71±0.26	4.85±0.09	6.08 ^e	<0.001***		4.85±0.08	4.65±0.14	4.54±0.16	25.70 ^{c,d}	<0.001***
Metassoma											
ABT ₁	0.47±0.04	0.43±0.04	0.44±0.03	8.59 ^e	<0.001***		0.52±0.04	0.43±0.03	0.42±0.03	43.23 ^{b,c}	<0.001***
AAT ₁	1.06±0.06	0.92±0.05	0.94±0.05	54.58 ^{b,c}	<0.001***		1.03±0.04	0.88±0.05	0.87±0.05	44.14 ^{b,c}	<0.001***
CT ₁	2.72±0.07	2.54±0.12	2.62±0.09	19.97 ^e	<0.001***		2.73±0.08	2.55±0.09	2.50±0.09	34.38 ^{c,d}	<0.001***
LT ₃	5.29±0.15	4.86±0.15	5.03±0.15	63.62 ^{c,d}	<0.001***		5.44±0.14	4.89±0.18	4.80±0.15	72.11 ^{c,d}	<0.001***
AT ₃	2.10±0.08	1.84±0.09	1.92±0.08	54.62 ^{c,d}	<0.001***		2.15±0.04	1.87±0.31	1.78±0.10	26.66 ^{c,d}	<0.001***
LT ₄	4.95±0.13	4.52±0.14	4.75±0.08	75.08 ^{c,d}	<0.001***		5.07±0.12	4.54±0.15	4.43±0.29	22.69 ^{c,d}	<0.001***
AT ₄	1.57±0.04	1.52±0.06	1.57±0.04	126.75 ^{c,d}	<0.001***		1.78±0.04	1.50±0.06	1.52±0.32	21.22 ^{b,d}	<0.001***
Asa											
CA	4.46±0.13	4.38±0.11	4.43±0.12	4.53 ^e	0.01**		4.51±0.09	4.43±0.15	4.27±0.30	13,059 ^{c,d}	<0,001***

a – sem distinção entre os grupo

b – não há diferença entre operárias e intermediárias

c – operárias e intermediárias diferem entre si

d – rainhas maiores que operárias e intermediárias

e – diferença significativa somente entre rainhas e operárias

f - Intermediárias diferem significativamente das Rainhas e Operárias

Assim como a colônia 62, a colônia 70 foi coletada durante a fase de estabelecimento e através da tabela 7 pode-se observar que foram detectadas diferenças significativas entre operárias e intermediárias para 5 caracteres: LC, DmI, CM, LM, LT₃ e LT₄, nesses casos as intermediárias foram menores que as operárias. As rainhas foram maiores que as operárias e intermediárias para todas as variáveis com exceção de LC, na qual não houve diferença significativa entre os grupos.

A tabela 8 apresenta os resultados da análise de variância para as colônias S01, 60 e 74 na fase madura.

As rainhas da colônia S01 foram maiores que as operárias e intermediárias na maioria das variáveis: DmI, LM, CME, ABT₁, AAT₁, CT₁, LT₃, AT₃, LT₄, AT₄ e CA. Em CM as rainhas foram maiores somente que as operárias sendo que não foi detectada diferença significativa entre operárias e intermediárias nem entre rainhas e intermediárias. Não foi detectada diferença entre operárias e intermediárias para as variáveis DmI, CM, CME, ABT₁, AAT₁, CT₁ e CA. Pela primeira vez as intermediárias foram maiores que as operárias nas variáveis LM e nos caracteres abdominais LT₃, AT₃, LT₄, AT₄. Não houve diferença significativa entre os grupos para a variável LC.

Na colônia 60 pode-se perceber que as rainhas foram significativamente maiores que as operárias e intermediárias para todas as variáveis exceto LC, na qual não houve diferença significativa entre as rainhas e as operárias. As intermediárias se mostraram menores que as operárias na maioria das variáveis: LC, DmI, CM, LM, CME, , CT₁, LT₃, AT₃ e LT₄, e CA, não havendo diferença estatisticamente significativa somente para as variáveis ABT₁, AAT₁ e AT₄ (Tabela 8).

Nenhuma diferença significativa foi detectada entre operárias e intermediárias da colônia 74. As rainhas foram maiores que as demais fêmeas na maioria das variáveis, exceto em LC, CM, CME e CT₁, para os quais não houve diferença entre os grupos de fêmeas e DmI e CA nos quais as rainhas diferiram apenas das operárias não sendo constatada diferença significativa entre rainhas e operárias (Tabela 8).

Através dessas análises preliminares pode-se constatar que existe uma assimetria entre operárias e intermediárias e que esta varia ao longo do ciclo colonial, onde nota-se que em fases finais e iniciais do ciclo (colônia 74 e colônia 54, respectivamente) ocorre uma menor assimetria entre esses dois grupos de fêmeas que se amplifica enquanto o ciclo progride, como observado na colônia 62 e 70 (ambas na fase de estabelecimento) e na fase madura

(colônias S01 e 60). As intermediárias tendem a ser menores que as operárias, exceto na colônia S01, na qual as intermediárias foram maiores que as operárias em alguns caracteres. As rainhas por sua vez, figuram entre os maiores indivíduos da colônia independente da fase do ciclo de colonial, porém, percebe-se que em fases finais e iniciais (colônias 74 e 54 respectivamente) essa diferença diminui, e de fato, nas colônias 74 e 54 foi verificado o maior número de variáveis dentre as quais não foi detectada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre as fêmeas. A análise de variância detectou diferenças significativas entre operárias, intermediárias e rainhas. Contudo essa assimetria obtida no teste univariado é robusta o suficiente para posicionar esses 3 grupos de fêmeas em castas morfológicamente distintas?

Para responder a questão acima análises multivariadas foram empregadas para qualificar as diferenças encontradas nos teste univariados. A análise discriminante de variáveis canônicas tem como principal finalidade qualificar diferenças entre grupos a fim de organizá-los em classes distintas. É uma estatística exploratória com teste de hipótese e, portanto, mais robusta e com resultados mais acurados. A Figura 11 apresenta o Scatterplot resultante da análise discriminante de variáveis canônicas realizadas para cada uma das colônias, percebe-se que em todas as fases as rainhas estão bem separadas das operárias e intermediárias que por sua vez são dois grupos pouco distintos entre si. Através dessa figura fica evidente que nos estágios finais e iniciais do desenvolvimento colonial (colônias 54 e 74), as castas estão menos definidas morfológicamente e quando a colônia atinge estágios mais avançados essa diferença se acentua, com rainhas bem deslocadas em relação às operárias e intermediárias (colônia 60). Pode-se concluir também que apesar das diferenças observadas anteriormente na estatística univariada, as intermediárias de *Polybia (T.) ignobilis* são claramente operárias com certo grau de desenvolvimento ovariano e não um estágio de rainha jovem como proposto por Forsyth (1978).

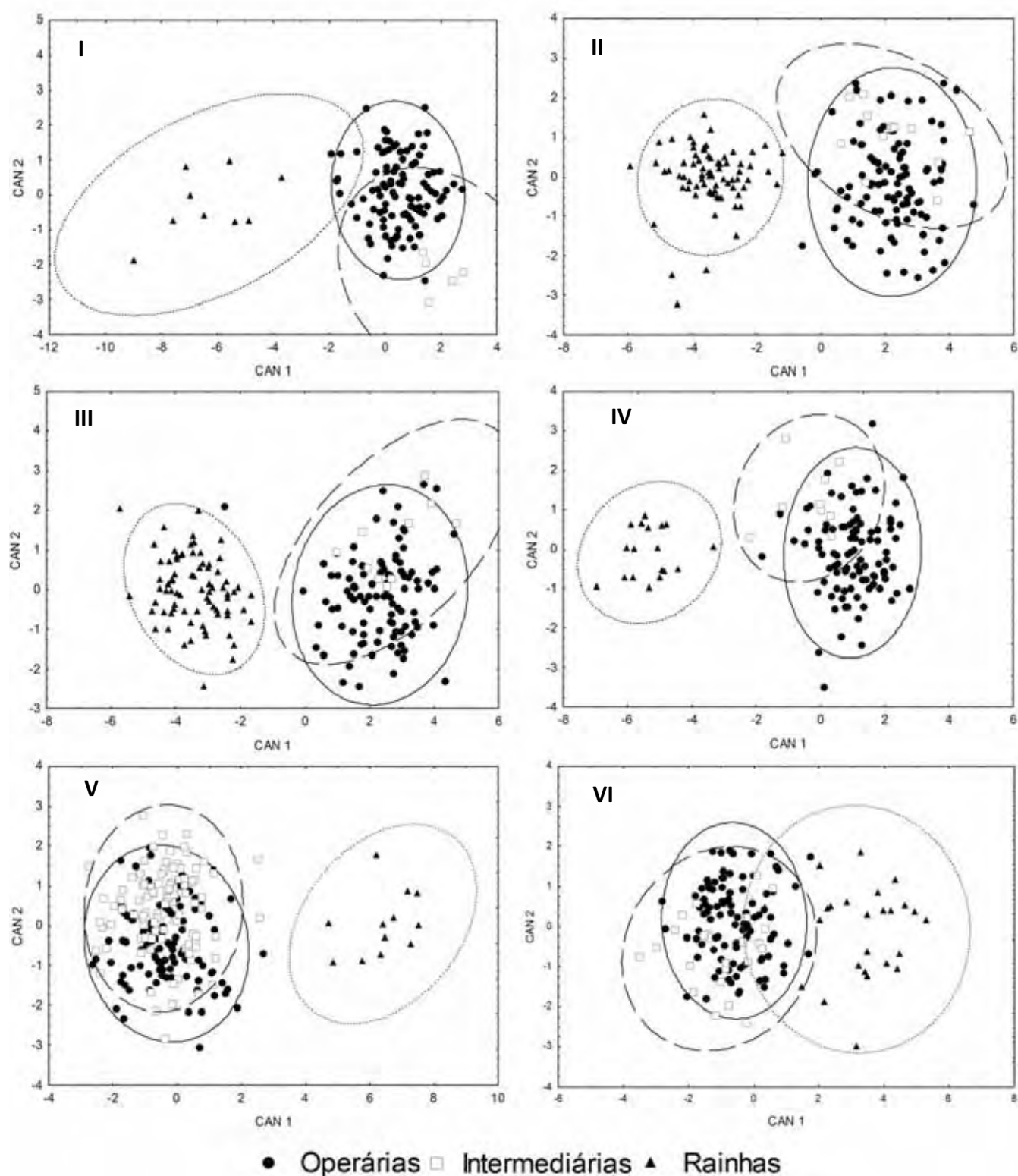


Figura 11. Scatterplot das raízes canônicas para cada colônia analisada. As elipses representam 95% da variação encontrada. I – Col. 54 (Enxame); II – Col. 62 (Estabelecimento); III – Col. 70 (Estabelecimento); IV – Col. S01 (Pré-enxameagem); V – Col. 60 (Pré-enxameagem) e VI – Col. 74 (Pós-enxameagem).

A matriz de classificação das diferentes fases é mostrada na tabela 9, na qual se pode perceber que em todas as colônias as rainhas obtiveram altos percentuais de classificações corretas enquanto que as intermediárias, com exceção da colônia 60, obtiveram baixos percentuais de acertos. Com exceção das colônias S01 (95%) e 74 (85%), 100% das rainhas foram classificadas corretamente e desta forma, sendo possível a separação destas em uma casta morfológica distinta. Em relação às intermediárias, na maioria dos casos elas se mostraram como operárias menores (exceto em S01, na qual foram maiores em algumas variáveis), obtendo um baixo percentual de acertos. Na colônia 60 houve um equilíbrio entre as operárias e intermediárias evidenciando a dificuldade do teste em classificar os dois tipos de fêmeas em classes distintas. Portanto, fica evidente a presença de dois grupos: operárias + intermediárias e rainhas.

Tabela 9. Matriz de classificação para os 3 grupos de fêmeas (operárias, intermediárias e rainhas)

Matriz de Classificação					
		Porcentagem de Acertos (%)	Operárias	Intermediárias	Rainhas
Colônia 54	Operárias	99	99	1	0
	Intermediárias	60	2	3	0
	Rainhas	100	0	0	9
	Total	97	101	4	9
Colônia 62	Operárias	96	96	4	0
	Intermediárias	0	13	0	0
	Rainhas	100	0	0	73
	Total	91	109	4	73
Colônia 70	Operárias	96	96	3	1
	Intermediárias	30	7	3	0
	Rainhas	100	0	0	76
	Total	94	103	6	77
Colônia S01	Operárias	99	99	1	0
	Intermediárias	33	6	3	0
	Rainhas	95	1	0	18
	Total	94	104	4	18
Colônia 60	Operárias	69	69	31	0
	Intermediárias	71	29	71	0
	Rainhas	100	0	0	12
	Total	72	98	102	12
Colônia 74	Operárias	97	97	1	2
	Intermediárias	13	21	3	0
	Rainhas	85	4	0	23
	Total	81	122	4	25

Finalmente, as Figuras 12 e 13 mostram graficamente a discriminação das castas das colônias 54, 62, 70, 60, S01 e 74 baseada na distribuição dos escores da primeira raiz canônica (CAN 1). Podemos perceber o mesmo padrão para as 6 colônias e que os valores de CAN 1 para intermediárias e operárias se sobrepõe estando representados no mesmo intervalo delimitado pelos escores das raízes canônicas, contudo, os valores de CAN 1 para rainhas se opõe ao das operárias e intermediárias sendo representados em um outro intervalo, ilustrando de maneira clara a diferenciação das castas nesta espécie de epiponíneo, ou seja, rainhas maiores de um lado e operárias e intermediárias de outro. Aliadas aos dados fisiológicos, nos quais as intermediárias representaram fêmeas não inseminadas, mas com certo desenvolvimento ovariano, para as próximas análises elas foram agrupadas às operárias e tratadas estatisticamente como um único grupo.

A fim de se obter diferenças estatísticas significativas entre as variáveis analisadas foi realizado novamente o teste univariado One-Way Anova entre rainhas e operárias (Operárias + Intermediárias). Os resultados da análise de variância são mostrados na tabela 10 e 11.

Como se pode notar na colônia 54 as rainhas são significativamente maiores que as operárias na maioria dos caracteres, com exceção de LC, CME, ABT₁, AAT₁ e CA, onde não houve diferença estatística (Tabela 10).

Já para as colônias em estabelecimento (62 e 70) as rainhas foram maiores em todas as variáveis com exceção de LC, na qual não houve diferença significativa na colônia 70. Essa situação é diferente da encontrada na colônia 54, que representava o início do ciclo (enxame), na qual, apesar das rainhas terem sido os maiores indivíduos, não houve diferença significativa em 5 variáveis, enquanto que nas colônias de estabelecimento em apenas uma variável (LC:colônia 70) (Tabela 10).

As colônias S01 e 60, na fase de pré-enxameagem, seguem o mesmo padrão das colônias em estabelecimento, onde apenas LC na primeira e CA na última não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, para todas as outras variáveis as rainhas foram significativamente maiores (Tabelas 11).

Finalmente a colônia 74, em fase final de ciclo, apresentou um padrão semelhante à colônia 54, que foi coletada em plena enxameagem. Na colônia 74, não houve diferença estatística em LC, CM, CME e CT₁.

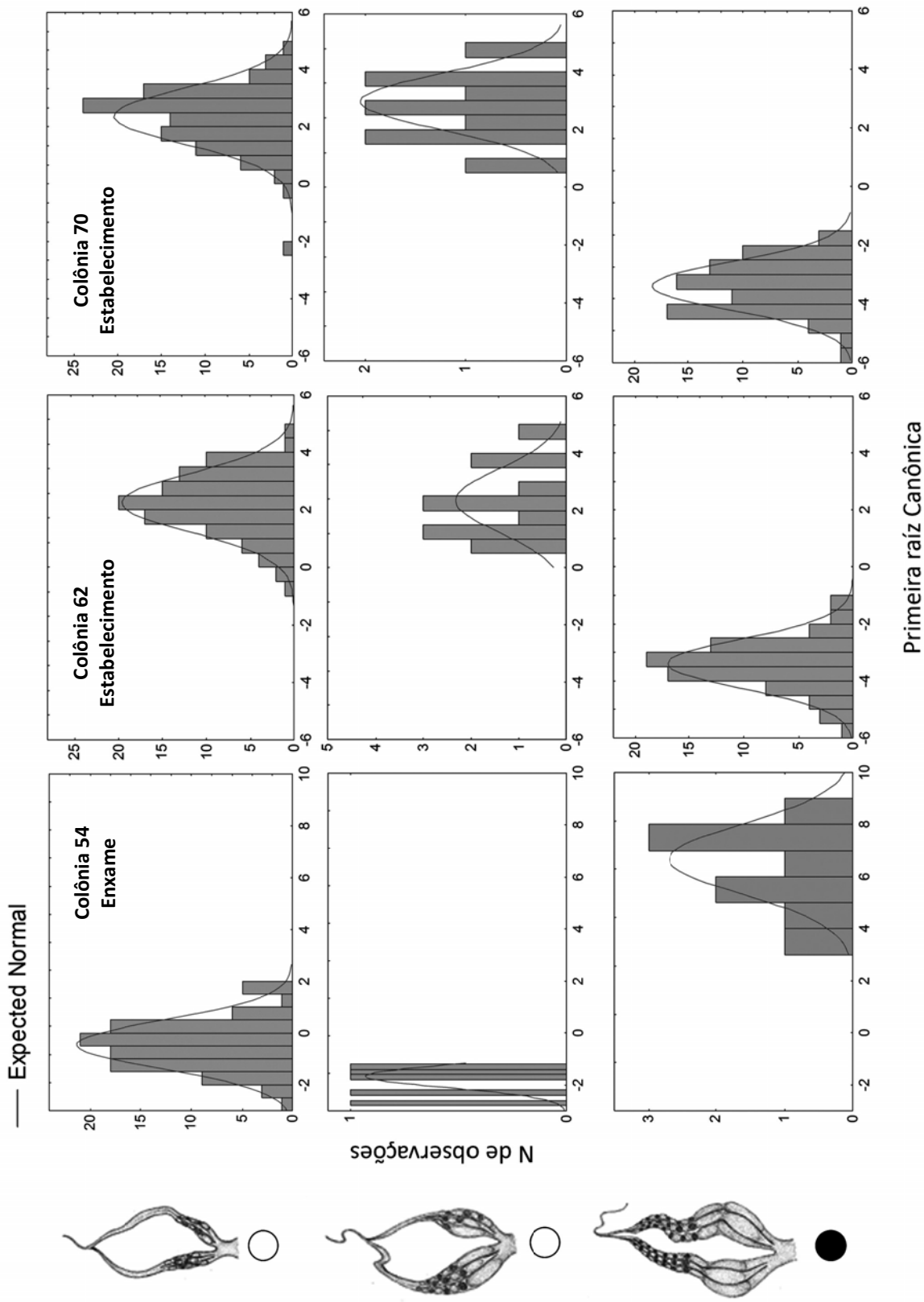


Figura 12. Discriminação entre operárias, intermediárias e rainhas de *P. (T.) ignobilis* utilizando os scores da primeira raiz canônica. Os gráficos representam a distribuição dos scores de CAN1 para as colônias 54, 62 e 70. De cima para baixo os ovários representam as operárias, intermediárias e rainhas. Círculos cheios abaixo dos ovários representam fêmeas inseminadas (Rainhas), enquanto que os vazios, fêmeas não inseminadas (Operárias e Intermediárias).

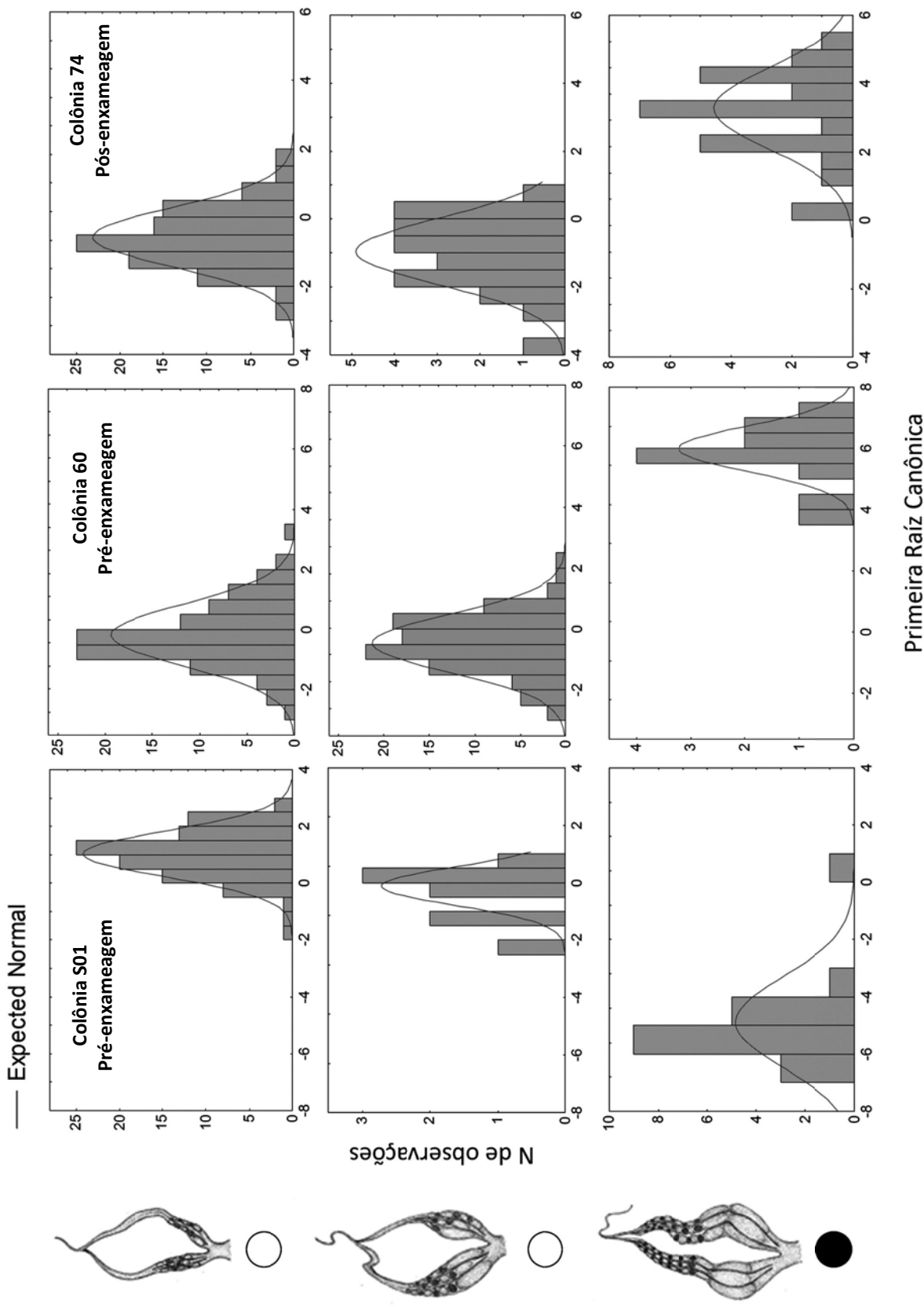


Figura 13. Discriminação entre operárias, intermediárias e rainhas de *P. (T.) ignobilis* utilizando os escores da primeira raiz canônica. Os gráficos representam a distribuição dos escores de CAN1 para as colônias S01, 60 e 74. De cima para baixo os ovários representam as operárias, intermediárias e rainhas. Círculos cheios abaixo dos ovários representam fêmeas inseminadas (Rainhas), enquanto que os vazios, fêmeas não inseminadas (Operárias e Intermediárias).

Tabela 10. Resultado da One-Way Anova para os caracteres após a determinação do posicionamento das intermediárias da colônia 54, 62 e 70 de *P. (T.) ignobilis*.

One-Way ANOVA									
Váriaveis	Colônia 54 (Enxame)			Colônia 62 (Estabelecimento)			Colônia 70 (Estabelecimento)		
	Médias±SD	Operárias (n=105)	One-Way ANOVA F P	Médias±SD	Operárias (n=113)	One-Way ANOVA F P	Médias±SD	Operárias (n=110)	One-Way ANOVA F P
Cabeça									
LC	3.03±0.03	3.00±0.06	2.07 0.15	3.16±0.06	3.09±0.08	37.25 <0.001***	3.02±0.04	3.02±0.05	0.08 0.78
DmI	1.33±0.03	1.25±0.03	40.14 <0.001***	1.29±0.05	1.25±0.06	25.79 <0.001***	1.32±0.03	1.25±0.04	151.03 <0.001***
Mesossoma									
CM	2.41±0.04	2.27±0.09	19.52 <0.001***	2.49±0.10	2.43±0.14	9.99 <0.001***	2.41±0.05	2.29±0.09	115.21 <0.001***
LM	2.29±0.07	2.13±0.22	9.63 <0.001***	2.47±0.08	2.26±0.07	337.21 <0.001***	2.32±0.04	2.16±0.07	277.72 <0.001***
CME	4.82±0.04	4.53±0.42	1.06 0.31	5.17±0.21	4.92±0.20	64.57 <0.001***	4.79±0.09	4.56±0.13	167.96 <0.001***
Metassoma									
ABT ₁	0.45±0.03	0.43±0.07	2.83 0.10	0.41±0.04	0.33±0.04	183.97 <0.001***	0.46±0.03	0.42±0.03	53.00 <0.001***
AAT ₁	0.90±0.04	0.87±0.17	1.15 0.29	0.83±0.03	0.71±0.07	111.69 <0.001***	0.99±0.06	0.87±0.04	248.94 <0.001***
CT ₁	2.67±0.05	2.47±0.26	9.25 <0.001***	2.71±0.08	2.51±0.12	149.72 <0.001***	2.64±0.08	2.49±0.09	140.76 <0.001***
LT ₃	5.23±0.13	4.70±0.31	11.55 <0.001***	5.71±0.18	5.09±0.23	361.36 <0.001***	5.39±0.12	4.88±0.16	495.42 <0.001***
AT ₃	2.07±0.03	1.85±0.27	13.42 <0.001***	2.18±0.10	1.88±0.12	281.19 <0.001***	2.17±0.07	1.88±0.30	156.80 <0.001***
LT ₄	4.90±0.15	4.37±0.30	10.62 <0.001***	5.25±0.37	4.68±0.19	121.97 <0.001***	5.06±0.12	4.56±0.14	616.31 <0.001***
AT ₄	1.78±0.11	1.49±0.05	216.23 <0.001***	1.83±0.07	1.53±0.08	677.91 <0.001***	1.81±0.07	1.53±0.09	620.48 <0.001***
Asa									
CA	4.24±0.04	4.26±0.12	0.13 0.72	4.54±0.12	4.45±0.15	17.85 <0.001***	4.39±0.10	4.47±0.12	48.05 <0.001***

Tabela 11. Resultado da One-Way Anova para os caracteres após a determinação do posicionamento das intermediárias da colônia S01, 60 e 74 de *P. (T.) ignobilis*.

One-Way ANOVA									
Váriaveis	One-Way ANOVA			One-Way ANOVA			One-Way ANOVA		
	Médias±SD	Operárias (n=109)	F	P	Médias±SD	Operárias (n=200)	F	P	
Colônia S01 (Pré-enameagem)									
Cabeça									
LC	3.07±0.04	3.05±0.06	1.20	0.28					
Dml	1.37±0.02	1.28±0.04	87.88	<0.001***					
Mesossoma									
CM	2.53±0.07	2.40±0.09	33.88	<0.001***					
LM	2.40±0.08	2.19±0.06	153.03	<0.001***					
CME	4.94±0.16	4.72±0.25	9.85	<0.001***					
Metassoma									
ABT ₁	0.47±0.04	0.43±0.04	16.73	<0.001***					
AAT ₁	1.06±0.06	0.92±0.05	106.96	<0.001***					
CT ₁	2.72±0.07	2.54±0.12	34.77	<0.001***					
LT ₃	5.29±0.15	4.87±0.16	107.00	<0.001***					
AT ₃	2.10±0.08	1.85±0.09	103.87	<0.001***					
LT ₄	4.95±0.13	4.54±0.15	110.33	<0.001***					
AT ₄	1.77±0.07	1.53±0.06	237.23	<0.001***					
Asa									
CA	4.46±0.10	4.38±0.11	7.47	0.01**					
Colônia 60 (Pré-enameagem)									
	3.11±0.04	3.05±0.08	8.07	<0.01**					
	1.36±0.03	1.27±0.05	37.53	<0.001***					
Mesossoma									
CM	2.45±0.07	2.28±0.09	35.95	<0.001***					
LM	2.51±0.06	2.21±0.09	119.79	<0.001***					
CME	4.85±0.08	4.58±0.16	34.32	<0.001***					
Metassoma									
ABT ₁	0.52±0.04	0.43±0.03	83.71	<0.001***					
AAT ₁	1.03±0.04	0.87±0.05	88.47	<0.001***					
CT ₁	2.73±0.08	2.52±0.09	53.56	<0.001***					
LT ₃	5.44±0.14	4.83±0.17	133.98	<0.001***					
AT ₃	2.15±0.04	1.82±0.23	44.45	<0.001***					
LT ₄	5.07±0.12	4.48±0.24	38.93	<0.001***					
AT ₄	1.78±0.04	1.50±0.23	42.64	<0.001***					
Asa									
CA	4.51±0.09	4.34±0.25	3.15	0,07					
Colônia 74 (Pós-enameagem)									
	3.01±0.08	3.02±0.06	0.02	0.88					
	1.29±0.05	1.26±0.04	10.28	<0.001***					
Mesossoma									
CM	2.33±0.11	2.31±0.10	0.90	0.34					
LM	2.30±0.10	2.16±0.08	62.93	<0.001***					
CME	4.65±0.20	4.58±0.16	3.33	0.07					
Metassoma									
ABT ₁	0.45±0.04	0.42±0.03	23.60	<0.001***					
AAT ₁	0.94±0.07	0.88±0.06	20.03	<0.001***					
CT ₁	2.54±0.13	2.49±0.09	4.46	0.04*					
LT ₃	5.31±0.30	4.85±0.18	101.38	<0.001***					
AT ₃	1.95±0.11	1.79±0.07	86.21	<0.001***					
LT ₄	4.87±0.23	4.49±0.15	106.03	<0.001***					
AT ₄	1.61±0.10	1.48±0.06	72.30	<0.001***					
Asa									
CA	4.34±0.15	4.24±0.16	8.86	<0.001***					

Os resultados da ANOVA (Tabela 10 e 11) confirmaram que independente da fase do ciclo colonial as rainhas sempre figuram entre os maiores indivíduos da colônia. Não houve diferença estatisticamente significativa nas variáveis LC, CME, ABT₁, AAT₁ e CA na colônia 54; em LC na colônia 70 e colônia S01; em CA na colônia 60 e em LC, CM, CME e CT₁ na colônia 74. Para todas as outras variáveis corporais as rainhas foram estatisticamente maiores.

No gênero *Polybia* pode-se observar espécies que apresentam diversas síndromes de diferenciação de castas. As espécies *P. bicytarella* (RICHARDS & RICHARDS, 1951), *P. micans* e *P. quadricincta* (RICHARDS, 1978) não apresentam diferenças significativas entre as castas. Já em várias outras espécies como *Polybia belemensis*, *P. emaciata*, *P. jurinei*, *P. singularis*, *P. striata*, *P. ruficeps* (RICHARDS, 1978), *P. occidentalis* (RICHARDS 1978 e NOLL *et al.*, 2000), *P. silvestris* (RICHARDS & RICHARDS, 1951), *P. rejecta* (NOLL *et al.*, 2004 e RICHARDS, 1978), *P. scutellaris* (RICHARDS, 1978 e NOLL & ZUCCHI, 2000), *P. spinifex* (NOLL *et al.*, 2004) apresentam rainhas maiores. Em *Polybia dimidiata* (RICHARDS, 1978 e SHIMA, 1996b), *P. liliacea* (NOLL *et al.*, 2004) apresentam rainhas maiores em alguns caracteres e menores em outros. Esse padrão também é observado em *Apoica* (SHIMA *et al.*, 2000; RICHARDS, 1978 e JEANNE *et al.*, 1995), *Ag. vicina* (BAIO *et al.*, 1998), *Ag. pallipes* (RICHARDS, 1978 e NOLL *et al.*, 1997) e *Ag. multipicta* (NOLL *et al.* 1997). Dados como esses revelam a importância do gênero *Polybia* para o entendimento da evolução dos mecanismos de diferenciação de castas nos Epiponini em função da grande variabilidade encontrada neste táxon. Ainda, dentro do mesmo subgênero (*Trichothorax*) encontramos *P. (T.) sericea* com baixo grau de diferenciação e *P. (T.) ignobilis* com grau médio de diferenciação (SHIMA, 1991). Os dados deste trabalho sugerem que as castas de *Polybia (T.) ignobilis* estão bem definidas ao longo de todo o ciclo colonial.

Após a determinação do posicionamento das intermediárias, a análise de variância (Tabelas 10 e 11) mostrou que na fase final e inicial do ciclo (colônias 74 e 54, respectivamente) há um maior número de variáveis corporais que não diferem estatisticamente entre as rainhas e operárias, evidenciando um padrão de diferenciação: as diferenças morfológicas entre rainhas e operárias tendem a aumentar ao longo do desenvolvimento colonial e diminuindo no final do ciclo. Entretanto, esse padrão pode ser mais bem visualizado através da figura 14.

A Figura 14 representa os scatterplots de algumas variáveis (LCxAT₄) que demonstra um padrão de diferenciação das castas em *Polybia (T.) ignobilis*. É importante ressaltar que os

círculos representam 80% da variação observada. Nos gráficos estão representadas as nuvens de pontos (também conhecidos “swarm”) que nada mais são os plots da distribuição dos valores (em mm) das variáveis ao longo dos eixos para as variáveis escolhidas (LC e AT₄) e pode-se perceber que ocorrem pontos dessas nuvens onde se observa áreas de sobreposição, quanto maior essa sobreposição ou “overlap” menor será a discriminação entre grupos analisados.

Através da análise da figura 14, pode-se observar que a sobreposição dos pontos é maior na colônia 74 e 54, que representam a fase final e inicial do ciclo respectivamente, o maior distanciamento entre rainhas e operárias é observado na colônia 60, caracterizada por uma colônia madura com muitos indivíduos (6905), sendo muitos machos (3012), poucas rainhas (12) com ovário bem desenvolvido e glândula de Richards bem desenvolvida e com secreção e possivelmente altamente produtivas e, portanto, perto da fase oligogínica. Dessa maneira, observa-se um padrão de diferenciação de castas em *Polybia (T.) ignobilis*, no qual as diferenças entre rainhas e operárias tendem a aumentar no decorrer do desenvolvimento do ciclo colonial e a diminuir no final do ciclo, contudo, as rainhas são sempre os maiores indivíduos da colônia. Tal aumento gradual na diferenciação intercasta também foi observado em *Chartergus globiventris* (NOLL *et al.*, 2002), *Polybia scutellaris*, *Polybia occidentalis*, *Polybia paulista* (NOLL & ZUCCHI, 2000) e *Protonectarina sylveirae* (SHIMA *et al.*, 1996b)

Analisando os resultados apresentados na tabela 12, pode-se perceber que é alta a porcentagem de rainhas classificadas corretamente em todas as colônias analisadas de *P. (T.) ignobilis* confirmando a presença de duas castas morfológicamente distintas.

A tabela 13 apresenta os resultados da Análise Discriminante *Foward Stepwise*. Essa análise tem como objetivo principal verificar a participação de cada uma das variáveis no modelo de diferenciação entre rainhas e operárias. A análise da participação da cada variável na diferenciação morfológica entre rainhas e operárias é dada através do Lambda de Wilks que representa a razão dos determinantes da matriz de soma dos quadrados do resíduo sobre a matriz de soma total dos quadrados, sendo que valores próximos de 1 significam que o resíduo é muito grande e que a variável não apresenta boa discriminação.

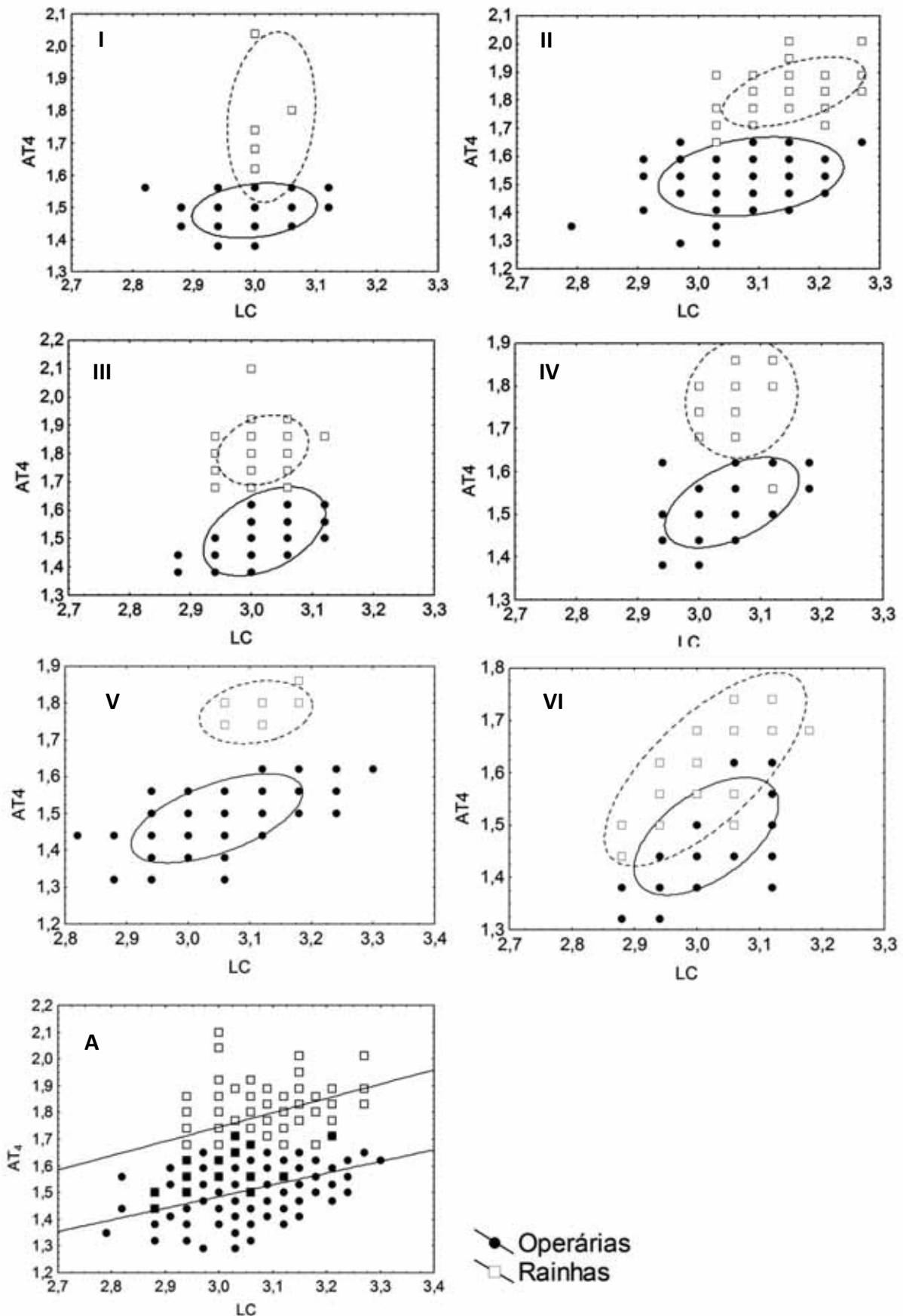


Figura 14. Plots (em mm) de algumas variáveis morfométricas da colônia 54 de *P. (T.) ignobilis*. Os círculos azuis representam as operárias enquanto os quadrados vermelhos as rainhas. Cada elipse representa 80% de variação. I – Col. 54 (Enxame); II – Col. 62 (Estabelecimento); III – Col. 70 (Estabelecimento); IV – Col. S01 (Pré-enxameagem); V – Col. 60 (Pré-enxameagem) e VI – Col. 74 (Pós-enxameagem). A – Discriminação de todas as rainhas e operárias de *Polybia (T.) ignobilis* usando log-log plots.

Tabela 12. Matriz de classificação após reposicionamento das intermediárias (operárias e rainhas)

Matriz de Classificação				
		Porcentagem de Acertos (%)	Operárias	Rainhas
Colônia 54	Operárias	100	105	0
	Rainhas	100	0	9
	Total	100	105	9
Colônia 62	Operárias	100	113	0
	Rainhas	100	0	73
	Total	100	113	73
Colônia 70	Operárias	99	109	1
	Rainhas	100	0	76
	Total	99	109	77
Colônia SID01	Operárias	100	107	0
	Rainhas	95	1	18
	Total	99	108	18
Colônia 60	Operárias	100	200	0
	Rainhas	100	0	12
	Total	100	200	12
Colônia 74	Operárias	99	123	1
	Rainhas	89	3	24
	Total	97	126	25

Observando-se a tabela 13 pode-se verificar que os valores de Lambda de Wilk's variaram de 0,1 – 0,4. Segundo Noll *et al.* (2004) valores de 0,1 - 0,5 são valores que representam espécies que apresentam considerável diferenciação entre as castas, tais como: *Agelaia pallipes*, *Ag. vicina*, *Ag. multipicta*, *Apoica flavissima*, *Polybia dimidiata*, *Polybia scutellaris*, *Protonectarina sylveirae*, *Polybia liliacea*, *Polybia spinifex*, *Polybia rejecta*, *Epipona tatua* e *Chartergus gloviventris*. De fato, as diferenças entre rainhas e operárias de *P. (T.) ignobilis* são notáveis até mesmo sem auxílio de lupa (principalmente em colônias na fase matura), permitindo uma pré-seleção de rainhas para a dissecação. Contudo, pode-se verificar analisando atentamente a tabela 13 a existência de um gradiente de valores de Lambda de Wilk's: a medida que o ciclo progride os valores de Lambda de Wilk's tendem a aumentar nas fases finais do ciclo colonial. Os valores médios do Lambda de Wilk's para cada fase do ciclo analisada foram: colônia 54 – 0,22; colônia 62 e 70 – 0,11; colônia S01 – 0,19; colônia 60 – 0,29 e colônia 74 – 0,32. Pode-se concluir analisando esses dados que à medida que o ciclo colonial progride o Lambda de Wilk's tende a aumentar e a diferenciação entre rainhas e operárias tende a diminuir, mesmo que as rainhas continuem sendo maiores a diferença diminui (Figura 14).

Tabela 13. Variáveis Morfológicas discriminatórias entre rainhas e operárias das colônia analisadas de *Polybia (T.) ignobilis*, reveladas após função discriminante usando o procedimento forward stepwise.

Análise Discriminante – Forward Stepwise					
	Passos	Variável	Lambda de Wilks	F	p>F
54	1	AT ₄	0,28	31,88	0,00*
	2	DmI	0,24	10,62	0,00*
	3	LC	0,25	14,84	0,00*
	4	LT ₃	0,22	0,57	0,45
	5	LM	0,24	10,03	0,00*
	6	LT ₄	0,22	3,09	0,08
	7	CA	0,22	2,81	0,10
	8	ABT ₁	0,22	1,73	0,19
62	1	AT ₄	0,16	83,48	0,00*
	2	CM	0,14	51,19	0,00*
	3	LM	0,13	23,50	0,00*
	4	CA	0,12	13,59	0,00*
	5	LT ₄	0,11	3,15	0,08
	6	DmI	0,11	2,49	0,12
	7	CT ₁	0,11	2,50	0,12
	8	AAT ₁	0,11	5,82	0,02
	9	LT ₃	0,11	2,94	0,09
	10	LC	0,11	1,28	0,26
70	1	LT ₄	0,15	60,02	0,00*
	2	AT ₄	0,13	31,97	0,00*
	3	LC	0,16	73,92	0,00*
	4	DmI	0,11	7,31	0,01
	5	AAT ₁	0,12	11,06	0,00*
	6	CT ₁	0,11	3,04	0,08
	7	CME	0,11	2,63	0,11
S01	1	AT ₄	0,27	45,36	0,00*
	2	AAT ₁	0,22	12,89	0,00*
	3	LC	0,23	23,09	0,00*
	4	DmI	0,23	18,71	0,00*
	5	LM	0,21	10,14	0,00*
	6	LT ₃	0,20	6,36	0,01
	7	CME	0,20	1,89	0,17
	8	ABT ₁	0,20	1,13	0,29
60	1	AT ₄	0,35	60,66	0,00*
	2	LC	0,32	33,82	0,00*
	3	LM	0,29	13,71	0,00*
	4	CA	0,29	14,26	0,00*
	5	ABT ₁	0,28	8,27	0,00*
	6	LT ₄	0,28	3,71	0,06
	7	DmI	0,28	5,77	0,02
	8	AAT ₁	0,28	5,25	0,02
	9	CME	0,27	1,24	0,27
74	1	LT ₄	0,33	3,69	0,06
	2	LC	0,38	26,19	0,00*
	3	AT ₃	0,34	8,04	0,01
	4	CM	0,33	4,25	0,04
	5	LT ₃	0,33	4,28	0,04
	6	LM	0,33	5,25	0,02
	7	AT ₄	0,33	6,99	0,01
	8	CT ₁	0,33	5,08	0,03
	9	CME	0,33	3,99	0,05

* p<0,01

Noll *et al.* (2004) sugere que os Epiponini podem ser agrupados segundo um gradiente formado pelos valores de Lambda de Wilk's (λ). Os menores valores de λ foram representados por espécies como *Agelaia pallipes*, *Ag. vicina*, *Ag. multipicta*, *Apoica flavissima*, *Polybia dimidiata*, *Polybia scutellaris*, *Protonectarina sylveirae*, *Polybia liliacea*, *Polybia spinifex*, *Polybia rejecta*, *Epipona tatua* e *Chartergus gloviventris* com valores de Lambda variando de 0,1 até 0,5, e nesse caso, representam espécies com boa diferenciação intercasta; valores intermediários de λ (variando entre 0,5 até 0,7) obtiveram uma menor porcentagem de rainhas classificadas corretamente e foram representados por espécies como *Charterginus fulvus*, *Astaloeca traili*, *Leipomeles dorsata*, *Chartegellus communis*, *Parachartergus fraternus*, *Nectarinella championi*, *Clyperia sulcata* e *Synoeca cyanea*; o terceiro grupo composto principalmente por *Metapolybia aztecoides*, *Brachygastra lecheguana*, *Pseudopolybia vespiceps* e por último *Angipolybia pallens* apresentaram valores altos de Lambda de Wilks (entre 0,7 até próximos de 1) e, portanto, com baixa diferenciação intercasta.

Segundo West-Eberhard (1978, 1981) conforme a colônia desenvolve-se, algumas rainhas desaparecem ou assumem papéis de operárias até que a população de rainhas reduza-se a poucas ou a uma fêmea fértil (fase monogínica), embora nem sempre o número de rainhas reduza-se a uma única rainha (monoginia). A essa alternância no número de rainhas designou-se o termo oligoginia cíclica. Tal flexibilidade apresentada é de fundamental importância para a manutenção de sua organização social, pois ao longo do ciclo colonial as rainhas com os maiores potenciais reprodutivos serão selecionadas, assegurando assim que a oligoginia cíclica cumpra seu papel: impedir que muitas (somente as com maior potencial reprodutivo) rainhas cheguem ao final do ciclo e permitir o controle de um grau de parentesco compatível com a *kin selection*, e dessa forma manter a organização social da colônia. Alguns estudos têm contribuindo para o entendimento dos processos que levam a essa redução drástica no número de rainhas (WEST-EBERHARD, 1978, 1981; FORSYTH, 1978; HERMAN *et al.*, 2000 e MATEUS, 2005) e neste contexto, não há dúvidas que as operárias e possivelmente as intermediárias (MATEUS, 2005) estejam envolvidas diretamente na manutenção dos processos da oligoginia cíclica, o que fez Noll & Wenzel (2008) intitular a organização social do Epiponini como uma “conspiração de operárias”. A figura 15 ilustra esse processo de diminuição no número de rainhas de *P. (T.) ignobilis*, mesmo podendo haver lacunas devido à impossibilidade de um monitoramento constante das colônias, as diferentes

fases nas quais foram coletadas permitiram esboçar o gráfico de alternância do número de rainhas.

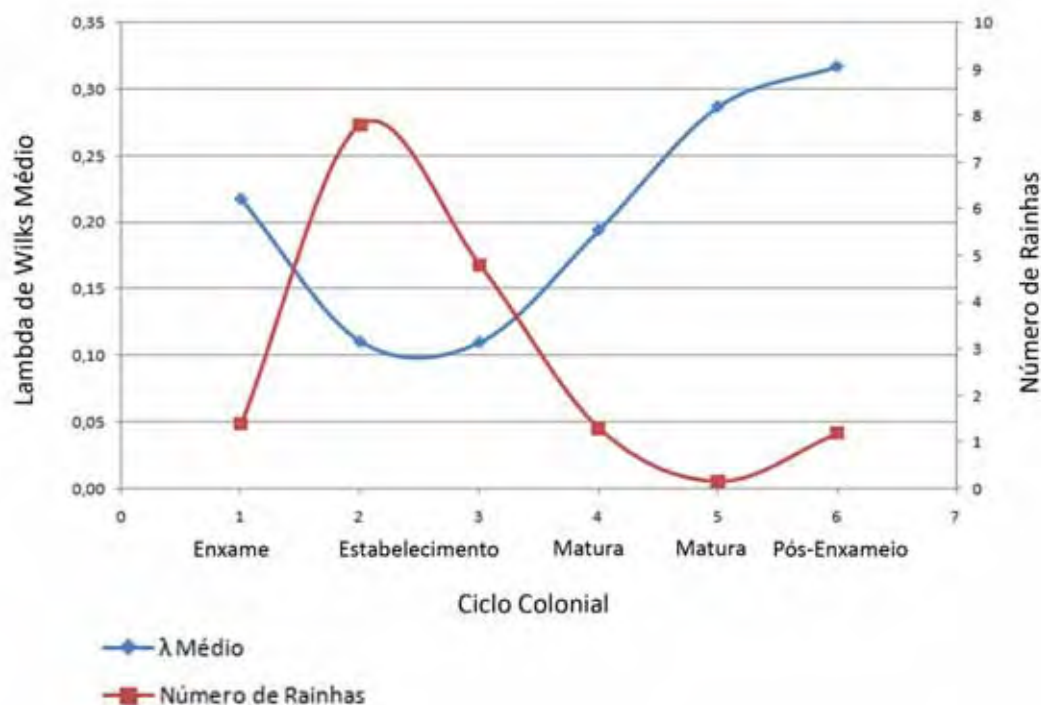


Figura 15. Relação entre o Lambda de Wilk's médio e a porcentagem de rainhas de acordo com fase do ciclo colonial.

O ciclo colonial pode funcionar como um modulador da organização social dos Epiponini, sendo que a oligoginia cíclica também pode estar relacionada a um aumento nas diferenças entre as castas em algumas espécies, uma vez que rainhas maiores têm maior longevidade (NOLL & ZUCCHI, 2000). Como mostra a figura 15, a porcentagem de rainhas variou em *P. (T.) ignobilis*, diminuindo ao longo do ciclo, tal padrão também foi encontrado em *Chartergus globiventris* e *Protopolybia exigua* (NOLL e ZUCCHI, 2002), algumas espécies de *Polybia* (NOLL & ZUCCHI, 2000), *Metapolybia aztecoides* (WEST-EBERHARD, 1978), *Parachartergus colobopterus*, *Protopolybia exígua* e *Polybia occidentalis* (STRASSMANN *et al.*, 1998). Esse aumento nas diferenças morfológicas entre as castas é provavelmente devido à exclusão das rainhas menores, e nesse contexto, as operárias podem ser fundamentais (WEST-EBERHARD, 1978; FORSYTH, 1978, HERMAN *et al.*, 2000; NOLL & ZUCCHI, 2002 e MATEUS *et al.*, 2004). Além disso, o tamanho da rainha é muito importante nos processos de competição entre rainhas, e de fato, tal padrão é

visto em outras sociedades de vespas com múltiplas rainhas (REEVE, 1991; NOLL & ZUCCHI, 2000). Neste caso, rainhas maiores e mais dominantes podem exibir maior desenvolvimento ovariano (QUELLER & STRASSMANN, 1989) e em uma hierarquia reprodutiva desta natureza deveria tender a favorecer indivíduos com tais atributos no processo de alternância entre poliginia e monoginia na colônia (NOLL, 2000). Em *Polybia (T.) ignobilis* pode-se perceber que a diferença entre rainhas e operárias foi aumentando de acordo com o ciclo e tendendo a diminuir nas fases finais do ciclo (Figura 13). Na colônia 60 que representa, provavelmente, a fase analisada mais próxima à monoginia observa-se grande diferenciação entre rainhas e operárias (Figura 13), nessa colônia vale ressaltar que os ovários eram do tipo D1 (única colônia em que foi encontrado esse tipo ovariano) (Figura 3 e 4) e, portanto, um ovário mais bem desenvolvido que nas demais colônias. As 12 (0,17% do total de indivíduos da colônia) rainhas remanescentes na colônia podem representar o resultado da oligoginia cíclica: seleção das rainhas com maior potencial reprodutivo e manutenção de índices toleráveis para a manutenção da *kin selection*.

O tamanho da colônia também pode influenciar no padrão de diferenciação de castas nos insetos sociais. Na maioria dos insetos sociais com colônias grandes, rainhas e operárias tendem a apresentar uma distinção morfológica notável (STRASSMANN *et al.*, 2002). Segundo Bourke (1999) o aumento na colônia diminui a chance das operárias tornarem-se rainhas e esse fato favorece a seleção do policiamento das operárias que impede que as mesmas tornem-se reprodutivamente ativas. Como o potencial reprodutivo das rainhas cai, as diferenças morfológicas entre rainhas e operárias tendem a aumentar, o que explica o fato de pequenas sociedades apresentarem baixa diferenciação intercastas (Stenogastrinae, *Polistes* e *Mischocyttarus*, Xylocopinae e Halictinae) enquanto grandes sociedades apresentam alta diferenciação entre as castas (Vespinae, Meliponini, Apini (*Apis*), Formigas e Cupins). Dessa forma pequenas sociedades são mais caracterizadas por conflitos diretos pela reprodução, enquanto que conflitos em grandes sociedades são indiretos tendo influência na composição da prole (BOURKE, 1999).

Contudo, Bourke (1999) classificou os Epiponini que apresentam grandes e complexas colônias como tendo um baixo grau de diferenciação intercasta, e os membros desse grupo com colônias pequenas tendo um grau médio de diferenciação. De fato, a maioria dos gêneros desta tribo são caracterizados por baixa diferenciação intercasta (RICHARDS, 1978; JEANNE, 1980; JEANNE *et al.* 1995; HUNT *et al.* 1996; O'DONELL, 1998,

STRASSMANN *et al.*, 2002 e NOLL & WENZEL, 2008). Portanto, esse grupo contradiz a generalização que espécies altamente eusociais e com colônias grandes apresentam necessariamente uma grande diferenciação entre castas. A diferenciação de castas traz a vantagem de permitir a especialização de indivíduos em tarefas distintas, o que traz vantagens para colônia, contudo, também há custos, entre eles a perda de flexibilidade em processos fundamentais para manutenção da colônia como o desaparecimento de uma rainha e sua sucessão, que pode levar muito mais tempo para ocorrer (STRASSMANN *et al.*, 2002). Essa condição observada em muitos Epiponini pode estar relacionada com a condição não usual das rainhas. Os insetos sociais que formam colônias muito grandes (tais como: cupins, algumas espécies de formigas que cultivam fungos, vespines, *Apis* e abelhas sem ferrão) são monogínicos (WILSON, 1971; MICHENER, 1974), enquanto os Epiponini são poligínicos e o número de rainhas varia segundo o processo de oligoginia cíclica (STRASSMANN *et al.*, 2002). Enquanto novas rainhas são produzidas existem mais fêmeas copulando e atuando como rainhas que o número ótimo para a colônia e como essas rainhas não deixam o ninho após copularem, algumas operárias podem, agressivamente, suprimir essas rainhas e forçá-las a atuar como operárias (WEST-EBERHARD, 1978; HERMANN *et al.*, 2000 e MATEUS, 2005).

Strassmann *et al.*, (2002) sugere que a baixa diferenciação de castas na maioria dos Epiponini seja determinado tardiamente no desenvolvimento do indivíduo ou até mesma na fase adulta (desenvolvimento pós-imaginal) como proposto por West-Eberhard (1978, 1981). Essa determinação tardia seria mediada através de conflitos sociais com as operárias. Além disso, nos Epiponini, rainhas e operárias apresentam padrões de relações genéticas de parentesco diferentes. Em particular, devido às novas rainhas serem normalmente produzidas na fase oligogínica sendo, dessa forma, mais aparentadas entre si que as operárias (STRASSMANN *et al.*, 1991; HUGHES *et al.*, 1993; QUELLER *et al.*, 1993; STRASSMANN *et al.*, 2002). As rainhas são também mais relacionadas às operárias que as operárias são entre si (STRASSMANN *et al.*, 2002). West-Eberhard (1978, 1981) mostrou que novas rainhas de *Metapolybia aztecoides* e *Synoeca surinama* podem ser produzidas a partir de operárias existentes ou pupas. Strassmann *et al.*, (2002) mostrou em *Parachartergus colobopterus* que a produção de novas rainhas pode ser um processo rápido, em colônias manipuladas o processo levou cerca de 7 dias (como o desenvolvimento pupal dura mais que 7 dias para esta espécie, as novas rainhas não poderiam ter sido produzidas a partir de larvas).

Os autores provaram, através de análises genéticas de grau de parentesco, que novas rainhas podem também ser produzidas a partir de operárias existentes na colônia e dessa forma designaram o termo totipotência para esse processo. Contudo, uma característica comum para as três espécies citadas acima é que todas apresentam baixa ou nenhuma diferenciação intercasta (RICHARDS, 1978; WEST-EBERHARD, 1978; 1981; STRASSMANN *et al.*, 1991; NOLL *et al.*, 2004). Em geral, em *Polybia (T.) ignobilis* as castas são bem distinguidas sendo que as rainhas são maiores que as operárias em todas as fases coloniais analisadas para grande maioria dos caracteres, o que sugere um desenvolvimento pré-imaginal dessas diferenças. Dessa forma o padrão de diferenciação morfológica das castas de *Polybia (T.) ignobilis* seria mais semelhante ao encontrado em *Agelaia pallipes*, *Ag. vicina*, *Ag. multipicta*, *Apoica flavissima*, *Polybia dimidiata*, *Polybia scutellaris*, *Protonectarina sylveirae*, *Polybia liliacea*, *Polybia spinifex*, *Polybia rejecta*, *Epipona tatua* e *Chartergus gloviventris*, com um forte componente pré-imaginal influenciado principalmente pelo tamanho corpóreo. A maioria das espécies acima, incluindo *P. (T.) ignobilis*, formam grandes sociedades e apresentam castas bem definidas ao longo do ciclo colonial, o que corrobora o modelo de Bourke (1999).

As principais evidências para a determinação pré-imaginal de castas deriva de estudos que correlacionam a morfologia da cutícula externa aliadas a diferenças fisiológicas e comportamentais (como por exemplo, desenvolvimento ovariano ou presença de espermatozóides na espermateca). A idéia básica desse tipo de determinação consiste na natureza da composição e da fisiologia da cutícula externa do adulto. Após a emergência, o adulto fica enclausurado dentro de uma cutícula sólida que não expandirá nem tão pouco diminuirá de tamanho, dessa forma qualquer crescimento corpóreo após a emergência desse adulto é impossível, presumindo-se que qualquer diferença na cutícula externa do adulto é resultado de padrões diferenciais de desenvolvimento durante os estágios imaturos (O'DONNELL, 1998).

Assim como em *Polybia (T.) ignobilis* outras espécies de Epiponini apresentam padrão de determinação pré-imaginal de castas. Determinação pré-imaginal de castas foi verificado em *Agelaia flavipennis* (EVANS & WEST-EBERHARD, 1970), *Agelaia areata* (JEANNE & FAGEN, 1974), *Ag. vicina* (SAKAGAMI *et al.*, 1996; BAIO *et al.*, 1998), *Ag. pallipes* e *Ag. multipicta* (NOLL *et al.*, 1997a), *Ag. yepocapa* (HUNT *et al.*, 2001), *Protonectarina sylveirae* (SHIMA *et al.*, 1996b, 2003), *Polybia scutellaris* (NOLL *et al.*, 1997b), *Epipona guerini*

(HUNT *et al.*, 1996), *Apoica flavissima* (SHIMA *et al.*, 1994) e *A. pallens* (JEANNE *et al.*, 1995), e *Polybia dimidiata* (SHIMA *et al.*, 1996a).

Contudo, diferenciação pré-imaginal de castas pode ocorrer sem que haja reflexos diretos na morfologia corpórea externa do indivíduo. O grau de diferenciação morfológica externa pode ser influenciado por fatores ecológicos que são independentes do sistema de interações sociais dentro de uma colônia (O'DONNELL, 1998). Por exemplo, a necessidade de mudar frequentemente ou rapidamente o local do ninho frente a alguma perturbação pode suprimir a evolução de rainhas morfológicamente distintas (O'DONNELL, 1998). A necessidade de que as rainhas sobrevivam ao inverno em climas temperados pode ter selecionado o extremo dimorfismo entre rainhas e operárias nos Vespinae, e variações no tamanho corpóreo foram mostradas durante o inverno em espécies que tipicamente não apresentam diferenciação morfológica de casta (DANNI, 1994; GOBI *et al.* 2006). KELLER (1995) sugeriu que dimorfismo entre rainhas e operárias de certas espécies de formigas pode funcionar como uma maneira de restringir a transmissão de patógenos das operárias para as rainhas, dessa forma patógenos e parasitas estariam agindo como um fator seletivo para a diferenciação pré-imaginal.

Características morfológicas internas entre rainhas e operárias podem diferir dramaticamente. Em rainhas de *Polybia (Trichothorax) ignobilis* é grande a diferença entre o tamanho e a coloração dos reservatórios de veneno entre rainhas e operárias, há diferença na textura e coloração do tecido gorduroso, no número de túbulos de Malpighi e na morfologia da glândula de Richards.

Os mecanismos de determinação de castas especialmente em vespas sociais são ainda pouco conhecidos, contudo, hipóteses vêm sendo formuladas na tentativa de elucidar este complexo processo. Talvez um dos mecanismos mais bem aceitos atualmente diz respeito à nutrição diferencial durante o período larval, contudo outros fatores como temperatura e genéticos parecem ter participação na determinação de castas, contudo, sabe-se muito pouco a respeito, constituindo uma área de pesquisa muito interessante onde há muito que se fazer.

Aumentos sazonais no tamanho corpóreo de fêmeas têm sido reportados em vários estudos (LITTE, 1979; ARCHER, 1972; WEST-EBERHARD, 1978; TURILLAZZI, 1980; MIYANO, 1983; SPRADBERRY, 1986; DANI, 1994; MUELLER, 1996), e essa sazonalidade vem sendo atribuída à mudanças na relação operária/larva de acordo com o desenvolvimento colonial. Quanto mais adultos estão presentes por larva, a disponibilidade de alimento

aumenta, levando a produção de indivíduos maiores (WEST-EBERHARD, 1969; ARCHER, 1972). O aporte protéico total estimado em colônias de *P. chinensis* aumenta exponencialmente com o tamanho da colônia, sugerindo um balanço nutricional mais favorável em grandes colônias de pós-emergência (BOURKE, 1988). LITTE (1979) removeu adultos de colônias de *M. flavitarsis* e encontrou que o tamanho dos adultos que emergiram diminuiu em relação às colônias não manipuladas. Entretanto, nos Epiponini, diferenças morfológicas são baseadas, algumas vezes, em diferenças mais relacionadas à forma corpórea que no tamanho. Por esta razão, JEANNE *et al.* 1995 e JEANNE, 1996 sugeriram que mudanças no crescimento relativo dos discos imaginais (NIJHOUT & WHEELER, 1996) fundamentam o desenvolvimento da diferenciação de castas nos Epiponini e que este tipo de reprogramação dos padrões de desenvolvimento precede as diferenças corpóreas entre rainhas e operárias neste grupo. Se confirmada, tal teoria traria complicações e mais complexidade à teoria de nutrição diferencial, uma vez que as castas não diferem no tamanho. (O'DONNEL, 1998).

A arquitetura do ninho pode fornecer pistas sobre o destino das larvas de uma colônia. Nos Vespinae, as células destinadas à produção de rainhas são maiores que as das operárias (SPRADBERY, 1973; GRENNE, 1991). Células de diferentes tamanhos foram registradas em *Ropalidia ignobilis* (WENZEL, 1992), *Agelaia vicina* (ZUCCHI *et al.*, 1995), *Ag. xanthopus* e *Ag. yepocapa* (O'DONNEL, 1998).

A temperatura e a quantidade de comida podem afetar o tempo de desenvolvimento e o tamanho corpóreo do adulto (ATKINSON, 1994; BERRIGAN & CHARNOV, 1994; O'DONNEL, 1998). Muitas espécies desenvolvem-se tardiamente com menores tamanhos quando a qualidade ou quantidade de alimento é baixa, contudo, com temperaturas mais baixas o adulto produzido será maior, apesar de ocorrer um atraso no desenvolvimento (O'DONNEL, 1998). Em *Polistes foederatus* fêmeas alimentadas *ad libitum* e expostas à baixas temperaturas (5°C) desenvolveram tardiamente em relação às expostas à temperaturas mais altas. As fêmeas que emergiram das colônias tratadas à baixa temperatura foram maiores e apresentaram maior desenvolvimento ovariano, contudo, não apresentaram diferenças comportamentais em relação às demais (TURILLAZZI & CONTI, 1981).

5. Conclusões

1. As castas de *Polybia (T.) ignobilis* são bem definidas em todas as fases do ciclo colonial. As rainhas são, em geral, maiores que as operárias em todas as fases do ciclo colonial analisadas. Tal padrão sugere que a determinação das castas nesta espécie ocorra durante o período pré-imaginal tal como ocorre em *Agelaia flavipennis* (EVANS & WEST-EBERHARD, 1970), *Agelaia areata* (JEANNE & FAGEN, 1974), *Ag. vicina* (SAKAGAMI *et al.*, 1996; BAIO *et al.*, 1998), *Ag. pallipes* e *Ag. multipicta* (NOLL *et al.*, 1997a), *Ag. yepocapa* (HUNT *et al.*, 2001), *Protonectarina sylveirae* (SHIMA *et al.*, 1996b, 2003), *Polybia scutellaris* (NOLL *et al.*, 1997b), *Epipona guerini* (HUNT *et al.*, 1996), *Apoica flavissima* (SHIMA *et al.*, 1994) e *A. pallens* (JEANNE *et al.*, 1995), e *Polybia dimidiata* (SHIMA *et al.*, 1996a);
2. A diferenciação entre as castas de *Polybia (T.) ignobilis* tende aumentar de acordo com o avanço do ciclo colonial, como observado em *Chartergus globiventris* (NOLL *et al.*, 2002), *Polybia scutellaris*, *Polybia occidentalis*, *Polybia paulista* (NOLL & ZUCCHI, 2000) e *Protonectarina sylveirae* (SHIMA *et al.*, 1996b).
3. As intermediárias foram encontradas em todas as fases analisadas sendo que as análises revelaram que na verdade são operárias com o certo desenvolvimento ovariano e não jovens rainhas como sugerido por Forsyth (1978), West-Eberhard (1978) e Strassmann *et al.* (2002). Dessa forma, podem atuar no balanço energético da colônia através da produção de ovos tróficos (SIMÕES, 1977) .

6. Referências Bibliográficas

- ARCHER M.E. The significance of worker size in the seasonal development of the wasps *Vespula vulgaris* (L.) and *Vespula germanica* (F.). **Journal of Entomology**, v.46, p.175–83. 1972.
- ATKINSON D. Temperature and organism size—a biological law for ectotherms? **Advanced Ecology Resources**, v.25, p.1–58, 1994.
- BAIO, M. V. **Diferenciação de castas e aspectos relacionados ao ciclo colonial de *Protopolybia sedula* de Saussure 1854** (Hymenoptera:Vespidae). Dissertação de Mestrado. FFCLRP-USP, Ribeirão Preto, São Paulo. 100p. 1998
- BAIO, M.V.,NOLL, F.B., ZUCCHI, R. & SIMOES, D. Non allometric differences in *Agelais vicina* (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini). **Sociobiology**, v.32, n.33, p.465-476. 1998.
- BAIO, M.V., NOLL, F.B. & ZUCCHI, R. Shape differences rather than size differences between castes in the Neotropical swarm-founding wasp *Metapolybia docilis* (Hymenoptera: Vespidae, Epiponini). **BMC Evolutionary Biology**, v.3, n.10, p.16. 2003a.
- BAIO, M.V.,NOLL, F.B. & ZUCCHI, R.. Morphological caste differences, variation according to colony cycle, and non sterility of workers in *Brachygastra augusti* (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini), a Neotropical swarm-founding wasp. **Journal of the New York Entomological Society**, v.111, n.4, p.243-253. 2003b.
- BERRIGAN D, & CHARNOV, E.L. Reaction norms for age and size at maturity in response to temperature: a puzzle for lifehistorians. **Oikos**, v.70, p.474–78, 1994.
- BLACKITH, R.E. 1958. An analysis of polymorphism in social wasps. **Insects Sociaux**, v.5, p.263-272. 1958.
- BOURKE AFG. Worker reproduction in the higher eusocial Hymenoptera. **The Quarterly Review of Biology**, v. 63, p.291–311. 1988.
- BOURKE, A.F.G. Colony size, social complexity and reproductive conflict in social insects. **Journal of Evolutionary Biology**, v.12, n. 2, p.245-25. 1999.
- CARPENTER, J.M. The Phylogenetic relationships and natural classification of the Vespoidea (Hymenoptera). **Systematic Entomology**, v.7, p.11-38. 1982.
- CARPENTER, J.M. Biogeograph patterns in the Vespidae (Hymenoptera): two views of Africa and South America. In: *P. Goldblatt. Biological Relationships between Africa and South America*. Yale University Press: New Haven, 1993. p.139-155.

CARPENTER J.M. A note on the names of paper wasps tribes (insecta:Hymenoptera:Vespidae). **Natural History Bulletin of Ibaraki University**, v.1, p.5-16. 1997.

CARPENTER, J. M. Symnony of the Genus *Marimbonda* Richards, 1978, with *Leipomeles Mobius*, 1856 (Hymenoptera:Vespidae:Polistinae), and a New Key to the Genera of Paper Wasps of the New World. **Americam Museum Novitates**, n.16, 16p. 2004.

CARPENTER J.M. & RASNITSNYN, A. P. Mesozoic Vespidae. **Pysche**, v.97, p.1-20. 1990.

CARPENTER, J.M. & ROSS, K.G. Colony composition in four species of Polistinae from Suriname., with a description of the larva of *Brachygastra scutellaris* (Hymenoptera, Vespidae). **Psyche**, v.97, p.1-20. 1984.

CRESPI BJ, YANEGA D. The definition of eusociality. **Behavior Ecology**, v.6, p.109–15. 1995.

CUMBER, R.A. Some observations on the biology of the Australian wasp *Polistes humilis* Fabr. (Hymenoptera, Vespidae) in North Auckland (New Zeland) with special reference to the nature of the worker caste. **Proceedings of the Royal Entomological Society of London**, v.26, p.11-16. 1951.

DANI FR. Caste size differences in *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). **Ethology. Ecology & Evolution**, v.3, p.67–73. 1994

DE OLIVEIRA, O.A.L., NOLL, F. B., MATEUS, S & GOMES, B. Castes and Asynchronous colony cicly in *Polybia bistriata* (Fabricius) (Hymenoptera: Vespidae). **Neotropical Entomology**, v.36, n.6, p.817-827. 2007.

EICKWORT K. Separation of the castes of *Polistes exclamans* and notes on its biology (Hym.: Vespidae). **Insectes Sociaux**, v.16, p.67–72. 1969.

EVANS, H.E. & M.J. WEST-EBERHARD. **The wasps**. University of Michigan Press Ann. Arbor: Michigan, 265 p. 1970.

FELIPPOTTI, G. T., NOLL, F. B. & MATEUS, S. Morphological studies on castes of *Protopolybia chartergoides* (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini) observed in colonies during male production stage. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.51, n.4, p.494-500. 2008.

FELIPPOTTI, G.T. **Estudos morfométricos sobre a diferenciação de castas em *Dolichovespula maculata* Linnaeus 1763 (Hymenoptera:Vespidae:Vespinae) e *Protopolybia chartegoides* Gribodo 1891 (Hymenoptera:Vespidae:Polistinae).** 2006.

84p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Filosofia e Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

FORSYTH, A. 1978. 226p. **Studies on behavioral ecology of polygynous wasps.** Doctoral dissertation - Harvard University, Cambridge.

FORSYTH, A. Swarming activity of Polybiine social wasps (Hymenoptera:Vespidae:Polybiini). **Biotropica**, v.13, p.93-99. 1981.

GADAGKAR, R.. Social structure and the determinants of queen status in the primitively eusocial wasp *Ropalidia cyathiformis*. **IUSSI, München**, p.377-378. 1987.

GADAGKAR R. Why the definition of eusociality is not helpful to understand its evolution and what we should do about it. **Oikos**, v.70, p.485–88. 1994.

GADAGKAR, R. & JOSHI, N.V. A comparative study of social structure in colonies of *Ropalidia*. **IX Congress IUSSI**, Boulder, Colorado, p.187-191. 1982.

GASTREICH, K.R., STRASSMANN, J.E, QUELLER, D.C. Determinants of high genetic relatedness in the swarm-founding wasp, *Protopolybia exigua*. **Ethology, Ecology & Evolution**, v. 5, p.529-539. 1993.

GIANNOTI, E. & LETIZIO-MACHADO, V.L. Colonial phenology of *Polistes lanio lanio* (Fabricius, 1775) (Hymenoptera, Vespidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.38, n.3, p639-643. 1994.

GOBBI, N. **Ecologia de *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae)**. 1977. Tese de Doutorado. Depto. Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirao Preto, USP. 229p.

GOBBI, N. & ZUCCHI, R. On the ecology of *Polistes versicolor versicolor* (Olivier) in southern Brazil. I-Phenological account. **Naturalia**, v.5, p.97-104. 1980.

GOBBI, N. & SIMÕES, D. Contribuição ao entendimento do ciclo básico de colônias de *Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga* (von Ihering, 1903) (Hymenoptera, Vespidae). **Annual Society of Entomology**, Brasil, v.17, n.2, p.421-436. 1988.

GOBBI, N., NOLL, F. & PENNA, M.A. “Winter” aggregations, colony cycle, and seasonal phenotypic change in the paper wasp *Polistes versicolor* in subtropical Brazil. **Naturwissenschaften**, v.93, p.487-497. 2006.

GREENE A. *Dolichovespula* and *Vespula*. p263–305. 1991.

HAMILTON, W.D. The evolution of altruistic behavior. **The American Naturalist**, v.97, p. 354-357. 1963.

HAMILTON, W.D. The genetical evolution of social behavior I. **Journal of Theoretical Biology**, v.7, p.1-16. 1964a.

HAMILTON, W.D. The genetical evolution of social behavior II. **Journal of Theoretical Biology**, v.7:17-52. 1964b.

HAMILTON, W.D. Altruism and related phenomena, mainly in the social insects. **Annual Review of Ecological Systematics**, v.3, p.193-232. 1972.

HANSEL, M.H.; SAMUEL, C. & FURTADO, J.I. *Liostenogaster flavolineata*: social life in the small colonies of an Asian tropical wasp. **Proceedings of the 9th Congress, IUSSI**. Boulder, Colorado, p.192-195. 1982.

HASTINGS, M.D., D.C. QUELLER, EISCHEN, F. & STRASSMANN, J. E. Kin selection, relatedness and worker control of reproduction in a large-colony epiponine wasp, *Brachygastra mellifica*. **Behavior Ecology**, v.9, p. 573–581. 1998.

HEBLING, N.J. & LETIZIO, V.L.G. Polimorfismo de las castas femininas de *Polybia emaciata*. **Bol. Soc. Ent.**, v.7, n.1, p. 23-24. 1973.

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

HINES, H.M., HUNT, J.H., O'CONNOR, T.H. GILLESPIE, J.J. & CAMERON, S.A. Multigene phylogeny reveals eusociality evolved twice in vespid wasps. **PNAS**, v.104, n.9, p.3295-3299. 2007.

HUGHES, C.R., QUELLER, D.C., STRASSMANN, J.E., SOLIS, C.R., NEGRÓN-SOTOMAYOR, J.A & GASTREICH, K.R. The maintenance of high genetic relatedness in multi-queen colonies of social wasps. In: L.Keller. **Queen Number and Sociality in Insects**. Oxford: Oxford University Press, 1993, p.153-170.

HUNT, J.H. Nourishment and social evolution in wasp *sensu lato*. In. J.H. Hunt & C.A. Nalepa. **The social Biology of wasps**, Ithaca: Cornell University Press, 1991. p. 678.

HUNT, J.H., SCHMIDT, D.K., MULLEY, S.S. & WILLIAMS, M.A. Caste dimorphism in *Epipona guerini* (Hymenoptera, Vespidae): Further evidence for larval determination. **Journal of Kansas Entomological Society**, v.69, n.4, p.362-369. 1996.

HUNT, J.H. O'DONNELL, S., CHERNOFF, N. & BROWNIE, C. Observations on two Neotropical swarm-founding wasps, *Agelaia yepocapa* and *A. panamaensis* (Hymenoptera, Vespidae). **Annual Entomological Society of Americas**, v.94, n.4, p.555-562. 2001.

JEANNE, R.L. Social biology of Neotropical wasps *Mischocyttarus drewseni*. **Bulletin of Museum of Comparative Zoology**, v.144, n.3, p.63-150. 1972.

- JEANNE, R. L. The adaptativeness of social wasp nest architecture. **Quarterly Reviews of Biology**, v.50, p.67-287. 1975.
- JEANNE, R. L. Evolution of social behavior in Vespidae. **Annual Review of Entomology**, v.25, p.371-395. 1980.
- JEANNE, R.L. The swarm-founding Polistinae. In: K.G. & Matthews R.W. **The Social Biology of Wasps**. Ithaca: Ed. Cornell University Press, 1991. p. 191-231.
- JEANNE, R.L. & FAGEN, R Polymorphism in *Stelopolybia areata* (Hymenoptera, Vespidae). **Psyche**, v.81, p.155-166. 1974.
- JEANNE, R.L., GRAF, C.A. & YANDELL B.S. 1995. Non-size-based morphological castes in a social insect. **Naturwissenschaften**, v.82, p.296-298. 1995.
- JEANNE, R.L. Non-allometric queen-worker dimorphism in *Pseudopolybia difficilis* (Hymenoptera:Vespidae). **Journal of Kansas Entomological Society**, v.69, n.4, p.370-374. 1996.
- KELLER L, PERRIN N. Quantifying the level of eusociality. **Proceedings of the Royal Society of London B** v.260, p.311–15. 1995.
- KELLER L. Parasites, worker polymorphism, and queen number in social insects. **The American Naturalist**, v.145, p.842–47. 1995.
- KEPPING, MG. Morpho-physiological variability and differentiation of reproductive roles among foundresses of the primitively eusocial wasp, *Belonogaster petiolata* (DeGeer) (Hymenoptera, Vespidae). **Insects Sociaux**, v.47, n.2, p.147-154. 2000
- KEPPING, M.G. Reproductive and worker caste in the primitively eusocial wasp *Belonogaste petiolata* (DeGeer) (Hymenoptera, Vespidae): Evidence for preimaginal differentiation. **Journal of Insect Physiology**, v.48, n.9, p.867-879. 2002.
- KUGLER, J., ORION, T., ISHAY, J. The number of ovarioles in the Vespinae (Hymenoptera). **Insects Sociaux**, v.23, n.4, p.535-533. 1976.
- LANDOLT PJ, AKRE RD, GREENE A. Effects of colony division on *Vespula atropilosa* (Sladen) (Hymenoptera: Vespidae). **Journal of Kansas Entomological Society** v.50, p.135–47. 1977.
- LITTE M. *Mischocyttarus flavitarsis* in Arizona: social and nesting biology of a polistine wasp. **Z. Tierpsychol.** v.50, p.282–312.1979.
- MATEUS, S. & NOLL, F.B. *Nectarinella xavantinensis*, a new neotropical social wasp (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae) **Journal of New York Entomological Society**, v.105, n.1, p.45-49. 1997.

MATEUS, S., NOLL, F.B. & ZUCCHI. Castes differences and related bionomic aspects of *Chartergellus communis*, a Neotropical swarm-founding polistinae wasp (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini). **Journal of New York Entomological Society**, v.107, n.4. 1999.

MATEUS, S. 2005. p.143. **Análise dos comportamentos envolvidos na organização social e no processo de enxameio de *Parachartergus fraternus* (Hymenoptera, Polistinae, Epiponini)**. Tese de Doutorado – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

MATEUS, S., NOLL, F.B. & ZUCCHI. Caste flexibility and variation according to the colony cycle in the swarm-founding wasp, *Parachartergus fraternus* (Gribodo) (Hymenoptera: Vespidae, Polistinae). **Journal of Kansas Entomological Society**, v.77, n.4, p. 470-483. 2004.

MATSUURA, M. *Vespa* and *Provespa*. In: K. G. Ross & R.W. Matthews. **The social Biology of wasps**. Ithaca: Cornell University Press, 1991. p.191-231.

MAULE-RODRIGUES, V., SANTOS, B.B., LUCCA, C.A.T. & ALMEIDA, M. Vespídeos sociais: Estudo de colônias de *Polybia (Trychothorax) chrysothorax* (Lichtenstein) (Hymenoptera, Vespidae, Polistinas, Polybiini). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.25, n.2, p.149-153, 1981.

MICHENER C.D. **The Social Behavior of the Bees: A Comparative Study**. Cambridge: Harvard Univ. Press, 1974.

MIYANO S. Number of offspring and seasonal changes of their body weight in a paper wasp, *Polistes chinensis antennalis* Pérez (Hymenoptera: Vespidae) with reference to male production by workers. **Researches on Population Ecology** v.25, p.198–209. 1983.

MONTAGNER, H. **Contribution à l'étude du déterminisme des castes chez les guêpes du genre *Vespa***. 1967. 58p. Ph D. dissertation - Université de Nancy.

MUELLER U.G. Life history and social evolution of the primitively eusocial bee *Augochlorella striata* (Hymenoptera: Halictidae). **Journal of Kansas Entomological Society** v.69, p.116–38.1996.

MURAKAMI, A. S. **Diferenciação etológica e morfofisiológica das castas de *Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga* Von Ihering, 1903 (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini), com especial referência às fêmeas hierarquicamente superiores**. 2007. 197p. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

MURAKAMI, A. S. N. & SHIMA, S. N. Nutritional and social hierarchy establishment of the primitively eusocial wasp *Mischocyttarus cassununga* (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini) and related aspects. **Sociobiology**, v.48, n.1, p.183-207. 2006.

NASCIMENTO, F. S. **Diversidade da organização social nos Epiponini (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae)**. 2003. 95p. Tese de Doutorado – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

NAUMANN, M.G. **The nesting behavior of *Protopolybia pumila* (Saussure, 1863) (Hymenoptera, Vespidae) in Panama**. 1970. 182p. Doctoral dissertation - university of Kansas, Kansas.

NIJHOUT H.F, WHEELER D.E. Growth models of complex allometries in holometabolous insects. **The American Naturalist**, v.148, p. 40–56. 1996.

NODA, S.C. **Diferenciação morfológica de castas em *Synoeca cyanea* (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini) de acordo com as fases de desenvolvimento das colônias**. 1999. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

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

NOLL, F.B. **Diferenciação inter-castas e sua variação conforme o ciclo de desenvolvimento em colônias de algumas espécies de *Polybia* (Hymenoptera, Vespidae, Espiponini)**. 1995. Dissertação de mestrado – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, Universidade de Paulo, Ribeirão Preto.

NOLL, F.B., MATEUS, S. & ZUCCHI, R. Morphological caste differences in neotropical swarm-founding Polistinae wasps. V - *Protopolybia exigua exigua* (Hymenoptera, Vespidae). **Journal of the New York Entomological Society**, v.194, v.1, p.61-68. 1996.

NOLL, F.B., MATEUS, S. & ZUCCHI, R. Morphological caste differences in neotropical swarm-founding and polygynous Polistinae wasps, *Polybia scutellaris* (Hymenoptera, Vespidae). **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v.32, p.76-80. 1997a.

NOLL, F.B., SIMÕES, D. & ZUCCHI, R. Morphological caste differences in Neotropical swarm-founding polistinae wasp. *Agelaia multipicta* and *A. pallipes* (Hymenoptera:Vespidae). **Ethology Ecology and Evolution**, v.9, p.361-372. 1997b.

NOLL, F. B. & ZUCCHI, R. Increasing caste differences related to life cycle progression in some neotropical swarm-founding polygenic polistinae wasps (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini). **Ethology Ecology & Evolution**, v.11, n.4. 1999.

NOLL, F.B. **Uma análise da evolução das castas nos Epiponini**. 2000. 217p. Tese de doutoramento. FFCLRP – Ribeirão Preto, USP.

NOLL, F.B. & ZUCCHI, R. 2000. Increasing caste differences related to life cycle progression in some neotropical swarm-founding polygynic wasps (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini). **Ecology, Ethology & Evolution**, v.12, n.1, p.43-65.

NOLL, F.B. & ZUCCHI, R. Caste and influence of colony cycle in swarm-founding Polistinae wasps (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini) **Insects Sociaux**, v.48, p.01-13. 2002.

NOLL, F.B., WENZEL, J.W. & ZUCCHI, R. Evolution of castes in neotropical swarm-founding wasps (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini). **American Museum Novitates**, v.3467, p.1-12. 2004.

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

O'DONNELL, S. Reproductive caste determination in social wasps (Hymenoptera, Vespidae). **Annual Review of Entomology**, v.43, p.323-346. 1998.

OLIVEIRA V. C. **Diferenciação etológica e morfofisiológica das castas de *Mischocyttarus* (*Monogynoecus*) *montei* Zikàn, 1949 (Hymenoptera, Vespidae, Mischocyttarini), com especial referência à regulação social das colônias**. 2007. 165p. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

OSTER, G.F. & WILSON, E.O. **Caste and Ecology in the social insects**. Monography in population biology. Princeton University, Press. 352p. 1978.

PARDI, L. & PICCIOLI, M.T.M. Studies on the biology of *Belonogaster* (Hymenoptera: Vespidae). 4. On caste differences on *Belonogaster griseus* (Fab.) and the position of this genus among social wasps. **Monitore Zoológico Italiano (NS) Suppl.**, v.16, n.9, p.131-146. 1981.

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

QUELLER, D.C., NEGRÓN-SOTOMAYOR, J.A HUGHES, C.R. & STRASSMANN, J.E. Queen number and genetic relatedness in a neotropical wasp, *Polybia occidentalis*. **Behavioral Ecology**, v.4, p.7-13. 1993.

QUELLER, D.C & STRASSMANN, J.E. Measuring inclusive fitness in social wasps. In: M.D.Breed & R.E Page (eds.). **The genetics of social evolution**, p.103-112. WestView Press, Boulder. 1989.

RATNEIKS F.L.W. Reproductive harmony via mutual policing by workers in eusocial hymenoptera. **The American Naturalist**, v.132, p.217-236,1988.

RATNEIKS F.L.W., REEVE H.K. Conflict in single-queen hymenopteran societies: the structure of conflict and processes that reduce conflict in advanced eusocial species. **J. Theoretical Biology**, v.158, p.33–65, 1992.

REED H.C, GALLEG0 J, NELSON J. Morphological evidence for polygyny in post-emergence colonies of the red paperwasp, *Polistes perplexus* Cresson (Hymenoptera: Vespidae). **Journal of Kansas Entomological Society**, v.61, p.453–63.,1988.

REEVE, H.K. *Polistes*. In: Ross & R.W. Matthews (eds.). **The Social Biology of Wasps**. Cornell University Press, Ithaca. 1991.

RICHARDS, O.W. & RICHARDS M.J. Observations on the social wasps of South America (Hymenoptera, Vespidae). **Transactions of the Royal entomology Society of London**, v.102, p.1-170, 1951.

RICHARDS, O.W. The biology of the social wasps (Hymenoptera:Vespidae). **Biological Review**, v.46, p.483-528, 1971.

RÖSELER, P. F., & RÖSELER, I. Dominance of ovariectomized foundresses of the paper wasp *Polistes gallicus*. **Insectes Soc.** v.36, p.219-234, 1989.

RICHARDS, O.W. The social wasps of the Americas excluding the vespinae. **London British Museum (Natural History)**, 580 p. 1978.

SAKAGAMI, S.F. & YOSHIKAWA, K. A new ethospecies of *Stenogaster* wasps from Sarawak, with a comment on the value of ethological characters in animal taxonomy. **Annual Zoology of Japan**, v.41, n.2, p.77-83. 1968.

SAKAGAMI, S.F., ZUCCHI, R.,YAMANE, S., NOLL, F.B. & CAMARGO, J.M.F. Morphological caste differences in *Agelaia vicina*, the neotropical swarm-founding polistinae wasp with the largest colony size among social wasps (Hymenoptera, Vespidae). **Sociobiology**, v.28, n.2, p.207-223. 1996.

SCHMITZ, J. & MORITZ, R.F.A. **Titulo** *Mol Phylogenet Evol* 9:183–191. 1998.

SHERMAN PW, LACEY EA, REEVE HK, KELLER L. The eusociality continuum. **Behavior Ecology**, v.6, p.102–8. 1995.

SHIMA, S.N. **Variabilidade das castas em algumas espécies de vespas sociais (Hymenoptera, Vespidae; Polybiini)**. 1991. 234p. Tese de doutoramento. Instituto de Biociências – Rio Claro, Unesp.

SHIMA, S.M., YAMANE, S. & ZUCCHI, R. Morphological caste differences in some neotropical swarm-founding Polistinae wasps I. *Apoica flavissima* (Hymenoptera, Vespidae). **Japanese Journal of Entomology**, v.64, n.1, p.811-822. 1994.

SHIMA, S.M., YAMANE, S. & ZUCCHI, R. Morphological caste differences in some neotropical swarm-founding Polistinae wasps II. *Polybia dimidiata* (Hymenoptera, Vespidae). **Japanese Journal of Entomology**, v.64, n.1, p.131-134. 1996a

SHIMA, S.M., YAMANE, S. & ZUCCHI, R. Morphological caste differences in some neotropical swarm-founding Polistinae wasps III. *Protonectarinae Sylveirae* (Hymenoptera, Vespidae). **Bulletin of the faculty of Education**, Ibaraki University, v.45, p.57-67. 1996b.

SHIMA, S.M., NOLL, F.B., ZUCCHI, R. & YAMANE, S. Morphological caste differences in some neotropical swarm-founding Polistinae wasps VI. *Pseudopolybia vespiceps*, with preliminary considerations on the role of the intermediate females in social organization of the Epiponini (Hymenoptera, Vespidae). **Journal of Hymenoptera Research**, v.7, p.280-295. 1998.

SHIMA, S.M., NOLL, F.B. & ZUCCHI, R. Morphological caste differences in some neotropical swarm-founding Polistinae wasps. *Brachygastra lecheguana* (Hymenoptera: Vespidae, Polistinae, Epiponini). **Sociobiology**, v.35, n.3, p.131-134. 2000.

SHIMA, S.M., NOLL, F.B. & ZUCCHI, R. Influence of colony cycle on physiological and morphological caste variation in the perennial Neotropical swarm-founding social wasp, *Protonectarina sylveirae* (Hymenoptera:Vespidae:Epiponini). **Sociobiology**, v.42, n.2, p.449-446. 2003.

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. 94pp. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

SIMÕES, D. **Etologia e diferenciação de castas em algumas espécies de vespas sociais (Hymenoptera, Vespidae)**. 1977. Tese de doutorado – Faculdade de Filosofia e Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SIMÕES, D. & MECCHI, M.R. Estudo sobre fenologia de *Polybia (Myrapetra) paulista* IHERING, 1896 (Hymenoptera, Vespidae). **Naturalia**, v.8, n.185-191. 1983.

SOLIS, C.R., HUGHES, C.R. KLINGER, C.J., STRASSMANN, J.E. & QUELLER, D.C. Lack of queen discrimination during wasp colony fission. **Behavioral Ecology**, v.9, p.172-176. 1998.

SPRADBERY, J.P. A biometric study of seasonal variation in worker wasps (Hymenoptera, Vespidae). **Journal of Entomology**, v.47, p.61-69. 1972.

SPRADBERY, J.P. **Wasps**. Sidgwick and Jackson: London. 1973.

SPRADBERY J.P. Polygyny in the Vespinae with special reference to the hornet *Vespa affinis picea* Buysson (Hymenoptera Vespidae) in New Guinea. **Monit. Zool Ital.** v.20, p.101–18. 1986.

SPRADBERY, J.P. Evolution of queen number and queen control. In: K. G. Ross & R.W. Matthews. **The social Biology of wasps**. Ithaca: **Cornell University Press**, 1991. p. 191-231. 1991.

STRASSMANN, J.E., QUELLER, D.C. SOLIS, C.R., HUGHES & C.R. Relatedness and queen number in the Neotropical wasp, *Parachartergus colobopterus*. **Animal Behavior**, v.42, p.461-470. 1991.

STRASSMANN JE, GASTREICH KR, QUELLER DC & HUGHES CR. Demographic and genetic evidence for cyclical changes in queen number in a Neotropical wasp, *Polybia emaciata*. **The American Naturalist**, v.140, p.363–372. 1992.

STRASSMANN, J.E., D.C. SOLIS, HUGHES, C.R., GOODNIGHT, K.F., QUELLER, C.R. & HUGHES, C.R. Colony life cycle history and demography of swarn founding social wasp. **Behavioral Ecology & Sociobiology**, v.40, p.71-77. 1997.

STRASSMANN, J.E., GOODNIGHT, K.F., KLINGER, C.J. & QUELLER, C.R. The genetic structure of swarms and the timing their production in the queens cycles of Neotropical wasps. **Molecular Ecology**, v.7, p.709-718. 1998.

SRASSMANN, J. E., SULLENDER, B. W. & QUELLER, D. C. Caste totipotency and conflict ina large-colony social insect. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v.269, p.263-270. 2002.

TAVERNA, L.G. **Estudos morfométricos sobre as diferenças entre as castas na vespa social neotropical, *Polybia emaciata* (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini)**. 2006. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

TSUJI K. Sterility for life: applying the concept of eusociality. **Animal Behavior** v.44, p.572–73. 1992.

TURILLAZZI S. Seasonal variations in the size and anatomy of *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera Vespidae). **Monit. Zool. Ital.** v.14, p.63–75. 1980.

TURILLAZZI S. The Stenogastrinae. In: K.G. Ross & R.W. Matthews. **The Social Biology of wasps**, p. 74-98. Ithaca, New York: Ed. Cornell University Press. 1991.

TURILLAZZI S, CONTE A. Temperature and caste differentiation in laboratory colonies of *Polistes foederatus* (Kohl) (Hymenoptera Vespidae) **Monit.Zool. Ital. NS**, v.15, p.275–97, 1981.

TURILLAZZI S., FRANSCECATO E., TOSI A.B., CARPENTER J.M. A distinct caste difference in *Polybioides tabidus* (Fabricius) (Hymenoptera:Vespidea). **Insectes Sociaux**, v.41, n.3, p.327-330. 1994.

VILLET MH. Definitions of “caste” in social insects. **Ethology Ecology & Evolution** v.4, p.213– 24. 1992.

WATSON, J.A.L., OKOT-KOTBER, B.M., NOIROT, Ch. Caste differentiation in social insects. Current themes in tropical Science. **Pergamon Press. Great. Britain**, v.3, p.1-405. 1985.

WENZEL, J.W. *Ropalidia Formosa*, a nearly paper wasp from Madagascar (Hymenoptera, Vespidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.60, n.4, p.549-556. 1987.

WENZEL, J.W. Extreme queen-worker dimorphism in *Ropalidia ignobilis*, a small-colony wasp (Hymenoptera:Vespidae). **Insectes Sociaux**, v.39, p.31-43. 1992.

WENZEL, J.W. & CARPENTER, J. M. In P. Eggleton, & R. Vane-Wright(Eds.), Comparing methods: adaptative traits and tests of adaptation. **Phylogenetics and Ecology**, p.79-101. 1994.

WEST-EBERHARD, M.J. The social biology of Polistinae wasps. **Miscellaneous Publications of the Museum Zoology, Univ. Mich**, v.140, p.1-101. 1969.

WEST-EBERHARD, M.J. Monogyny in “polygynous” social wasps. **Proceedings of the VII Congress IUSSI**, London, p.396-403. 1973.

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

WEST-EBERHARD, M.J. Intragroup selection and the evolution of insects societies. In: (R. D. Alexander & D. W. Tinkle **Natural selection and social behavior**. New York: Ed Chiron Press, 1981. p. 3-17.

WHEELER, W.M. The ant colony as organism. **Journal of Morphology**, v.22, p.307-325. 1991.

WILSON, E.O. **The insect societies**. Belknap Press: Harvard University Press, Cambridge Mass., 1971. 548 p.

WINSTON M.L. **The Biology of the Honey Bee**. Cambridge: Harvard Univ. Press. 1987.

YAMANE, S. & MAETA, Y. Notes on the hibernation of *Parapolybia indica* . **Japanese Journal of Entomology**, v.53, n.3, p.576-577. 1985.

YAMANE, SÔ, & ITÔ, Y. Caste differentiation and social organization in the old World Vespidae. **IUSSI**, München, p.265-266. 1987.

YAMANE, S.; KOJIMA J. & YAMANE, S.K. Queen/worker size dimorphism in a oriental polistinae wasp, *Ropalidia Montana* Carl (Hymenoptera, Vespidae). **Insecta Sociaux**, v.30, p.416-422. 1983.

YOSHIKAWA, K.; OHGASHI, R. & SAKAGAMI, S. F. Preliminary report on entomology of the Osaka City University Sth Expedition to Southeast Asia 1966. **Nature and Life in SE Asia**, v.6, p.153-182, 1969.

ZUCCHI, R.; YAMANE SÔ. & SAKAGAMI, S.F. Preliminary notes on the habits of *Trimeria howardi*, a neotropical communal masarid wasp, with a description of the mature larvae (Hymenoptera:Vespoidea). Studies on the vespoid larvae. **Insecta Matsumarana (N.S.)**, v.8, p.47-57. 1976.

ZUCCHI, R.; S. F. SAKAGAMI; F. B. NOLL; M. R. MECHE; M. V. BAIO; S. MATEUS & S. N. SHIMA. 1995. *Agelaia vicina*, a swarm-founding Polistinae with the largest colony size among wasps and bees (Hymenoptera, Vespidae). **Journal of the New York Entomological Society** 103: 129-13.