

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Análise do perfil químico de ninhos de vespas do gênero
Polistes (Hymenoptera: Vespidae)

Romario Ferreira Torres

Dourados-MS
Fevereiro - 2015

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Romario Ferreira Torres

Análise do perfil químico de ninhos de vespas do gênero *Polistes*
(Hymenoptera: Vespidae)

Dissertação apresentada à Universidade
Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte
dos requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM ENTOMOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.

Área de Concentração: Entomologia

Orientador: William Fernando Antonialli Junior

Dourados-MS
Fevereiro – 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

T	Torres, Romario Ferreira.
693a	Análise do perfil químico de ninhos de vespas do gênero <i>Polistes</i> (Hymenoptera: Vespidae). / Romario Ferreira Torres. – Dourados, MS : UFGD, 2015. 92f. Orientador: Prof. William Fernando Antonialli Junior. Dissertação (Mestrado em entomologia e conservação da biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados. 1. Hidrocarbonetos. 2. Perfil Químico. 3. Compostos Químicos. I. Título. CDD – 595.75

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.



UFGD

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

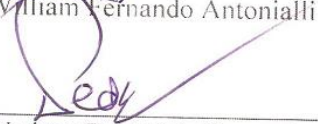
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE - MESTRADO

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA PELO CANDIDATO ROMARIO FERREIRA TORRES, ALUNO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO", REALIZADA NO DIA 20 DE FEVEREIRO DE 2015.

Aos vinte dias do mês de fevereiro de dois mil e quinze (20/02/2015), às 8h30min, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada "ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO EM NINHOS DE VESPAS DO GÊNERO *Polistes* (HYMENOPTERA: VESPIDAE)", apresentada pelo mestrando Romario Ferreira Torres, do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, à Banca Examinadora constituída pelos professores: Dr. William Fernando Antonialli Junior/UEMS (presidente), Dr. Wedson Desidério Fernandes/UFGD (membro titular), Dr. Sandro Márcio Lima/UEMS (membro titular). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer ao candidato e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após o candidato ter apresentado a sua Dissertação, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido o candidato considerado APROVADO, fazendo *jus* ao título de MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados, 20 de fevereiro de 2015.


Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior


Prof. Dr. Wedson Desidério Fernandes


Prof. Dr. Sandro Márcio Lima

Biografia do Acadêmico

Romario Ferreira Torres, natural de Mundo Novo-MS, nascido aos 04 de setembro de 1990, filho de Aparecida de Fátima de Oliveira Torres e Felinto Ferreira Torres Filho.

Cursou o Ensino Fundamental (1997 a 2004) na Instituição de ensino Escola Estadual Marechal Rondon, em Mundo Novo-MS e o Ensino Médio (2005 a 2007) na Escola Estadual Profª Yollanda Ally, também em Mundo novo-MS.

Graduado em Licenciatura em Ciências Biológicas, título obtido na Instituição de Ensino Superior Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul-UEMS, Unidade de Mundo Novo-MS de 2008 a 2012. Desenvolvi projeto de pesquisa com produtividade de colônias da vespa social *Polistes versicolor*, que foi utilizado como trabalho de conclusão de curso e publicado na revista Sociobiology em 2014 (Torres RF, Torres VO, Suárez YR, Antonialli-Junior WF. 2014. Effect of the Habitat Alteration by Human Activity on Colony Productivity of the Social Wasp *Polistes versicolor*. Sociobiology 61(1): 100-106. DOI: 10.13102/sociobiology.v61i1.100-106

E durante o mestrado desenvolvi minha pesquisa com o perfil químico do ninho e dos adultos de espécies de vespas sociais Polistinae por meio da técnica de Espectroscopia Óptica por Transformada de Fourier no Infravermelho Médio por Detecção Fotoacústica (FTIR-PAS).

Agradecimentos

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a execução deste trabalho.

Em especial:

À Deus, por ter me concedido capacidade, força, e determinação para realizar este trabalho;

Aos meus pais por me apoiarem sempre, por sempre acreditarem em meu potencial e estarem ao meu lado;

Às minhas irmãs, em especial à Viviana pela compreensão, dicas e pelo apoio;

Ao Prof. Dr. William, pela oportunidade de realizar este trabalho, pelo voto de confiança em mim depositado, pela orientação, disposição, ajuda, pelas dicas, correções, opiniões e ensinamentos científicos a mim transmitidos;

À minha esposa Daniele Morandi pela compreensão, força, dedicação e por sempre me apoiar em todos os momentos.

	Pág.
ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO EM NINHOS DE VESPAS DO GÊNERO <i>Polistes</i> (HYMENOPTERA: VESPIDAE)	
Resumo Geral.....	3
General abstract.....	5
Introdução Geral.....	7
Revisão Bibliográfica	
O comportamento de nidificação em vespas eussociais (Hymenoptera: Vespidae)	12
Referências Bibliográficas.....	18
Objetivo geral.....	29
Hipóteses.....	29
 CAPÍTULO 1 -	
Variação dos Compostos Químicos de Diferentes Regiões nos Ninhos de Vespas do Gênero <i>Polistes</i> (Hymenoptera: Vespidae) por FTIR-PAS	30
Resumo.....	30
Abstract.....	31
Introdução.....	32
Material e Métodos.....	35
Resultados.....	37
Discussão.....	39
Referências Bibliográficas.....	51
 CAPÍTULO 2 -	
Variações inter e intraespecíficas do perfil químico de ninhos em espécies de vespas sociais do gênero <i>Polistes</i> por meio da técnica de FTIR-PAS	57
Resumo.....	57
Abstract.....	58
Introdução.....	50
Material e Métodos.....	62

Resultados.....	65
Discussão.....	67
Referências Bibliográficas.....	74
Considerações Finais.....	83
Anexo I – Normas da Revista Neotropical Entomology.....	84

Resumo Geral

Vespas sociais investem na construção de uma estrutura física denominada ninho, o qual além de fornecer proteção para os indivíduos e controle homeostático promove a coesão dos membros da colônia, por meio de um local comum no qual os indivíduos interagem uns com os outros. Neste sentido, a estrutura física do ninho é extremamente importante para a troca de sinais, principalmente sinais químicos, os quais atuam diretamente no reconhecimento de companheiras de ninho. Além disso, nas últimas décadas vários estudos vêm demonstrando a importância do perfil químico do ninho para compor a assinatura colonial, contudo, pouco se sabe sobre o papel destes compostos na composição da assinatura química colonial das vespas sociais. Portanto, este trabalho objetivou avaliar diferenças inter e intraespecíficas nas vespas sociais *Polistes ferrerii*, *Polistes lanio* e *Polistes versicolor* pelo perfil químico do ninho. De cada ninho foram extraídos amostras de 6 regiões distintas: pedúnculo, mecônio e regiões inferior, lateral, mediana e superior das células do favo. As amostras foram analisadas pela técnica de Espectroscopia Óptica por Transformada de Fourier no Infravermelho Médio por Detecção Fotoacústica (FTIR-PAS) que permitiu identificar grupos químicos moleculares de hidrocarbonetos presentes no material do ninho. Para a primeira etapa do trabalho os resultados mostraram que as seis regiões são estatisticamente diferentes, sendo, contudo, as regiões pedúnculo e mecônio mais diferente das demais partes do ninho. Para a segunda etapa foram utilizados apenas ninhos de *P. lanio* e *P. versicolor*, os quais foram coletados em dois ambientes distintos, cuja categorização foi baseada na estrutura da vegetação e no tipo e intensidade de atividade humana. Nesta etapa, a MANOVA apontou diferenças significativas entre o perfil químico do ninho das 2 espécies e também entre o tipo de ambiente em que as colônias estão nidificadas. Além disso, os dados apontam maior correlação entre o perfil químico pedúnculo e os esternitos das fêmeas, e não entre as regiões do favo, corroborando com

trabalhos reportados na literatura. Dessa forma, pode-se concluir que o ninho é dividido em três regiões quimicamente diferentes: células do favo, o mecônio e o pedúnculo, provavelmente por conta do grau de interação de cada uma das regiões com indivíduos de diferentes estágios de desenvolvimento. O estudo mostra que o perfil químico do ninho pode servir como ferramenta taxonômica para avaliar diferenças inter e intraespecíficas em vespas sociais.

Palavras-chave: Assinatura colonial; hidrocarbonetos; mecônio; pedúnculo; Polistinae.

General Abstract

Social wasps invest in the construction of a physical structure called nest, which besides to providing protection to individuals and homeostatic control promotes the cohesion of the colony members through a common location in which individuals interact with each other. In this regard, the physical structure of the nest is extremely important for the exchange of signals, primarily chemical signals, which act directly on recognition nestmates. Moreover, in recent decades several studies have demonstrated the importance of the nest chemical profile to compose the colonial signature, however, little is known about the role of these compounds in the composition of colonial chemical signature of the social wasps. Therefore, this study aimed to evaluate differences inter- and intraspecific in social wasps *Polistes ferreri*, *Polistes lanio* and *Polistes versicolor* by the nest chemical profile. Each nest samples from 6 different regions were extracted: peduncle, meconium and regions inferior, lateral, median and superior of the comb cells. The samples were analyzed by the technical Fourier Transform–Infrared Photoacoustic Spectroscopy (FTIR-PAS) which identified molecular chemical groups of the hydrocarbon present in the nest material. For the first stage of the study results showed that all six regions are significantly different being, however, the meconium and peduncle regions more different from the other samples. For the second stage were used only nests of *P. lanio* and *P. versicolor*, which were collected in two different environments, the categorization was based on vegetation structure and the type and intensity of human activity. In this step, the MANOVA showed significant differences between the chemical profile of the nest in two species and also between the type of environment in which colonies are nesting. Furthermore, the data show a stronger correlation between peduncle chemical profile and sternites of females than among others regions of the comb, confirming previous work. Thus, it can be concluded that the nest can be divided into three regions different chemically: comb cells, peduncle

and meconium, probably because of the interaction degree of each region with individuals of the different stages of development. Moreover, the nest chemical profile can serve as taxonomic tool for evaluate inter and intraspecific differences in social wasps.

Key Words: Colonial signature; hydrocarbons; meconium, peduncle; Polistinae.

Introdução Geral

As vespas sociais, conhecidas no Brasil por marimbondos ou cabas, pertencem à ordem Hymenoptera, família Vespidae, e constituem elementos característicos da fauna Neotropical de insetos (Silveira 2002). O grupo inclui desde espécies solitárias até altamente eussociais (West-Eberhard 1996). Todavia, o comportamento social está presente em apenas três subfamílias (Stenogastrinae, Vespinae e Polistinae) das seis atuais, dentre as quais, apenas Polistinae ocorre no Brasil (Carpenter & Marques 2001).

A subfamília Polistinae é a mais diversa dentre as vespas eussociais, formada por 940 espécies, das quais 302 espécies estão registradas no Brasil (Carpenter & Marques 2001). Nesta subfamília destaca-se o gênero *Polistes*, com 206 espécies descritas e o único com distribuição cosmopolita (Reeve 1991).

A ocupação ou construção de uma estrutura física, denominada ninho, por indivíduos adultos foi um marco importante na evolução das vespas eussociais (Jeanne 1975, McGlynn 2012), esta estrutura abriga todos os membros da colônia, fornecendo proteção e coesão entre os indivíduos (Jeanne 1975). Além disso, o ninho proporciona um microambiente protegido para os imaturos (Starr 1991), promovendo controle homeostático (Jones & Oldroyd 2007) e protegendo contra predadores (Smith *et al* 2002).

Espécies do gênero *Polistes* constroem ninhos expostos utilizando matéria vegetal (West-Eberhard 1969) coletados, triturados e misturados com água e provavelmente secreção salivar, resultando em um produto semelhante ao papel, que pode variar consideravelmente em espessura e textura entre os diversos grupos de vespas (Richards & Richards 1951). Por essa característica as vespas pertencentes ao gênero *Polistes*, assim como outros grupos de vespas Polistinae, são também conhecidos como “vespas papel”.

Os diferentes arranjos arquitetônicos encontrados nos ninhos constituem considerável valor taxonômico, e tem ajudado na classificação das vespas desse grupo. Segundo Hunt & Carpenter (2004) a arquitetura dos ninhos de vespas sociais pode ser utilizada sob perspectiva filogenética, comportamental, ecológica e evolutiva. Além disso, Jeanne (1975) destaca que a arquitetura dos ninhos evoluiu influenciada por fatores físicos do ambiente, necessidades estruturais do ninho, custo energético de sua construção e manutenção, predação por artrópodes e vertebrados, parasitismo e necessidade social da espécie.

De acordo com Jones & Oldroyd (2007) uma das principais funções do ninho é promover o controle homeostático que é de fundamental importância para o desenvolvimento colonial. Trabalhos como o de Jeanne & Morgan (1992) mostram que a temperatura interna do ninho sofre menos variação que a temperatura externa em *Polistes*. Esses autores sugerem existir um grande esforço entre os membros da colônia para manter uma condição física ideal que permita o desenvolvimento dos indivíduos em diferentes estágios. Logo, diante da necessidade de controle homeostático, os ninhos de vespas são construídos preferencialmente em locais que promovem menor variação ambiental (Jones & Oldroyd 2007). Neste sentido, na busca por locais mais favoráveis para o desenvolvimento de suas colônias, muitas espécies de vespas sociais nidificam em ambientes modificados e/ou ocupados pelo homem (Fowler 1983, Butignol 1992, Giannotti & Mansur 1993), sendo este comportamento facultativo para algumas espécies. Para Judd (1998), ambientes antropizados podem propiciar menor competição interespecífica assim como diminuir a taxa de predação por vertebrados, além de fornecer abrigos que protegem da ação direta do vento e da chuva. Entretanto algumas espécies de vespas sociais estão restritas a ambientes conservados e, portanto, nidificam somente em locais com baixa interferência humana e densidade específica de vegetação (Santos *et al* 2007, Santos *et al* 2009, Silva-Pereira & Santos 2006).

Dentre os estudos já realizados para avaliar diferenças intraespecíficas em vespas sociais destacam-se pioneiramente os trabalhos sobre comportamento. Entretanto, atualmente diversos estudos buscam demonstrar a importância dos compostos químicos no papel de reconhecimento intraespecífico (Layton *et al* 1994, Tannure-Nascimento *et al* 2007, Antonialli-Junior *et al* 2008, Neves *et al* 2012) e interespecífico (Haverty *et al* 1992, Elmes *et al* 2002, Antonialli-Junior *et al* 2008). Em geral, estes trabalhos enfatizam a importância dos hidrocarbonetos cuticulares (HCs), compostos que fazem parte da camada lipídica que recobre a cutícula e tem como principal função evitar a dessecação dos indivíduos (Lockey 1988). Além disso, sabe-se que os HCs atuam como feromônios de contato, permitindo a identificação de co-específicos, auxiliando na manutenção da estrutura das colônias, separando os indivíduos de acordo com sua função, seu status fisiológico e seu ranque hierárquico (Provost *et al* 2008), exercendo o papel de uma assinatura química específica.

Por outro lado, alguns estudos têm demonstrado a importância do próprio substrato do ninho de vespas sociais para compor o perfil químico cuticular característico da colônia (Espelie & Hermann 1990, Espelie *et al* 1990, Layton & Espelie 1995). Neste sentido, estudos como o de Espelie *et al* (1990), Layton & Espelie (1995) e Gamboa *et al* (1996) têm mostrado que o contato físico entre indivíduos adultos com o substrato do ninho é importante, visto que os adultos adquirem parte da sua assinatura química específica pelo contato com componentes do próprio material do ninho.

Layton & Espelie (1995) observaram ainda, que fêmeas de *Polistes metricus* (Say) com 4 dias de vida já são capazes de reconhecer o ninho natal e, Panek *et al* (2001) constataram que entre o terceiro e quarto dia após a emergência, os adultos já adquiriram o perfil químico da colônia, provavelmente por conta das interações com outros adultos e imaturos, bem como com o próprio substrato do ninho. Trabalhos como os de Klahn (1979), Reeve (1991), e Sumana *et al* (2005) evidenciam a forte relação entre os HCs dos

indivíduos e o perfil químico do ninho, uma vez que, eles observaram que as fêmeas após um período de hibernação, saem em busca de locais adequados para fundar suas colônias e acabam retornando ao local de seu sítio natal para realizarem novas fundações, fenômeno conhecido como filopatria. Contudo, deve-se ressaltar que parte da composição química dos ninhos das “vespas papel” pode ser adquirida do ambiente uma vez que o ninho é composto de matéria vegetal (West-Eberhard 1969).

A técnica mais utilizada atualmente para análise da composição desses HCs em insetos sociais é a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) (Dietermann *et al* 1992) que é confiável e capaz de fornecer boas análises qualitativas e quantitativas. Contudo, requer diversas etapas para a preparação das amostras e pode haver significativa demora para obtenção de resultados.

A técnica de Espectroscopia de absorção no Infravermelho Médio por Detecção Fotoacústica (FTIR-PAS, “Fourier Transform–Infrared Photoacoustic Spectroscopy”), vem sendo utilizada mais recentemente com sucesso para analisar a estrutura química dos HCs em diferentes sistemas naturais (Antoniali-Junior *et al* 2007, 2008, Neves *et al* 2012, 2013, Torres *et al* 2014a, Soares *et al* 2014). Esta técnica mede a interação da radiação com a matéria por meio da geração de sinais acústicos produzidos pela incidência de radiação modulada na superfície da amostra, fenômeno conhecido como efeito fotoacústico (Michaelian 2003).

A leitura é realizada na região espectral do infravermelho médio, que compreende a faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} (Skoog *et al* 2002, Silverstein & Webster 2000). Esta técnica é considerada universal, uma vez que pode ser empregada em vários materiais, como: sólidos, líquidos, gases e pó, além de ser aplicada em materiais de grande fragilidade e em amostras com dimensões reduzidas (Greene *et al* 1992).

O FTIR-PAS já tinha sido utilizado com sucesso para estudo de sistemas biológicos (Irudayaraj *et al* 2002, Caires *et al* 2008, Andrade *et al* 2008). Para os himenópteros sociais

esta técnica já foi utilizada para investigar diferenças entre castas e sexo (Antonialli-Junior *et al* 2007) e variação intra e interespecífica (Antonialli-Junior *et al* 2008) em formigas. Em vespas sociais, esta técnica foi utilizada para comparar o perfil químico de HCs de acordo com a idade (Neves *et al* 2012), o efeito do parasitismo social sobre o perfil químico cuticular em espécies do gênero *Mischocyttarus* (Neves *et al* 2013) e também a relação entre o perfil químico cuticular e o status reprodutivo em vespas de fundação independente (Torres *et al* 2014a e Soares *et al* 2014).

Tendo em vista que a composição química dos ninhos de vespas sociais também funciona como sinais químicos que medeiam às interações entre membros de suas colônias, é de extrema relevância avaliar a variação intra e interespecífica destes compostos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O comportamento de nidificação em vespas eussociais (Hymenoptera: Vespidae)

As vespas sociais estão agrupadas na família Vespidae que compreende desde espécies solitárias até grupos verdadeiramente eussociais (West-Eberhard 1996). Este grupo de vespas sociais possui distribuição cosmopolita, contudo, sua maior diversidade está concentrada nas regiões tropicais (Carpenter 1991).

Em geral, vespas de comportamento solitário, como Eumeninae e Masarinae, com exceção de algumas espécies de *Zethus*, constroem seus ninhos exclusivamente com barro ou utilizam cavidades prontas (Wenzel 1998, Carpenter & Marques 2001), enquanto que vespas eussociais utilizam principalmente material vegetal para construção de seus ninhos (Wenzel 1998, Carpenter & Marques 2001), comportamento observado nas subfamílias Stenogastrinae, Vespinae e Polistinae. Contudo, dessas, apenas Polistinae ocorre no Brasil (Carpenter & Marques 2001).

As vespas da subfamília Polistinae podem fundar suas colônias de maneira independente, como ocorre nas tribos Polistini, Mischocyttarini e alguns Ropalidiini ou por enxameagem como a maioria dos Ropalidiini e os gêneros da tribo Epiponini (Jeanne 1980, Wenzel 1998, Carpenter & Marques 2001). As fundações por enxameagem são comuns em espécies mais derivadas, na qual um enxame com várias rainhas e centenas ou milhares de operárias deixam a colônia original em busca de um local adequado para instalar o novo ninho (Wenzel 1998, Prezoto *et al* 2008).

Nos grupos de fundação independente, uma nova colônia pode ser iniciada por uma única fêmea fecundada (haplometrose), ou então, duas ou mais fêmeas fecundadas iniciam o processo de fundação (pleometrose) e posteriormente, apenas uma se torna dominante e

realiza a oviposição e o processo reprodutivo (Jeanne 1991). Este tipo de fundação independente ocorre em espécies menos derivadas, como é o caso dos gêneros *Polistes*, *Mischocyttarus*, *Belonogaster* e *Parapolybia*, além de algumas espécies de *Ropalidia* (Gadagkar 1991).

A subfamília Polistinae é a mais diversa dentre as vespas eussociais, formada por 940 espécies, das quais 302 espécies estão registradas no Brasil (Carpenter & Marques 2001). Nesta subfamília destaca-se o gênero *Polistes*, com 206 espécies descritas e o único com distribuição cosmopolita (Reeve 1991), sendo considerado um “gênero-chave” para a compreensão da evolução de vespas sociais (Evans 1958, Evans & West-Eberhard 1970), principalmente por apresentar traços evolutivos mais próximos à linhagem ancestral. Estas vespas sociais podem ocupar muitos tipos de habitats, variando desde cavidades naturais, árvores, arbustos, cupinzeiros até mesmo associadas a construções humanas (Lima *et al* 2000, Prezoto *et al* 2007). As espécies comumente encontradas associadas às construções humanas demonstram alto grau de sinantropismo (Fowler 1983).

Um dos marcos evolutivos para os insetos sociais foi a ocupação ou construção de um local dividido por todos os indivíduos da colônia, denominado de ninho (Jeanne 1975). Ninho é a estrutura física habitada pela colônia (McGlynn 2012). Dessa forma, como a grande maioria das espécies de Vespidae investem todo o potencial reprodutivo da colônia num único ninho, estes organismos precisaram desenvolver mecanismos de defesa contra potenciais predadores (Judd 1998), uma vez que esta é uma das forças seletivas mais importantes que as vespas sociais tiveram que enfrentar ao longo de sua história evolutiva (Jeanne 1996).

A função primária do ninho é proporcionar um microambiente protegido para os imaturos (Starr 1991), promovendo controle homeostático, fundamental para o desenvolvimento das formas imaturas (Jones & Oldroyd 2007), além de proteger contra predadores (Smith *et al* 2002).

Em Polistinae os ninhos são muito diversos, variando desde um único favo descoberto, com cerca de 5 cm de diâmetro e poucas dezenas de células de cria, até ninhos com mais de 50 cm de comprimento, cujas colônias podem permanecer ativas por muitos anos, com várias camadas de células de cria sobrepostas, abrigando milhões de células e envoltos por uma “capa”, denominada de invólucro (Carpenter & Marques 2001, Souza & Zanuncio 2012). Estes ninhos podem ser constituídos por diversos tipos de materiais, como fibras vegetais e tricomas de plantas, que são macerados e misturados com água e, em alguns casos, com secreção glandular e barro. Por utilizarem material vegetal para a construção do ninho são popularmente conhecidas como “vespas papel” (Jeanne 1975, Wenzel 1998). Estes ninhos variam consideravelmente em espessura, sendo mais "grosseiros" na maioria das espécies da tribo Epiponini e mais "delicados" em Polistini (Richards & Richards 1951).

Os ninhos podem ser construídos na superfície abaxial de folhas ou em construções humanas, como nas espécies de *Polistes*, *Mischocyttarus*, *Leipomeles*, *Apoica* e algumas espécies de *Polybia*; diretamente sobre tronco de árvores, como em espécies de *Metapolybia* e *Synoeca*; presos em ramos vegetais, como em *Brachygastra* e *Polybia*; ou escondidos em cavidades, como buracos em troncos de árvores ou no solo, como acontece em algumas espécies de *Agelaia* e *Polybia* (Carpenter & Marques 2001).

A diversidade de formas e a complexidade arquitetônica dos ninhos são tantas que alguns detalhes estruturais têm sido usados na elaboração de chaves de identificação em nível de gênero ou em trabalhos que tratam da diversidade de ninhos de vespas em alguns locais, além de ser útil na obtenção de caracteres comportamentais para análises filogenéticas (Jeanne 1975, Wenzel 1998, Arab *et al* 2003, Nascimento *et al* 2008, Prezoto & Clemente 2010, Souza & Zanuncio 2012; Somavilla *et al* 2012).

De fato, grande parte do entendimento da evolução da eussocialidade se dá por meio de estudos comportamentais e biológicos das vespas e outros insetos sociais, sobretudo do

modo de nidificação e estrutura dos ninhos (Wenzel 1998, Nascimento *et al* 2008). Em alguns casos, a diferença encontrada nos ninhos é mais notável que a variação morfológica da própria vespa (Wenzel 1992). Este autor também demonstra que a arquitetura do ninho associada ao comportamento de construção são particularmente úteis para traçar linhagens filogenéticas em insetos, sobretudo, em vespas eussociais.

Segundo Jeanne (1970, 1975) e Corbara *et al* (2009), a seleção dos locais de nidificação, juntamente com a arquitetura do ninho é influenciada por pelo menos dois tipos de pressão de seleção: as condições climáticas e a predação por formigas e outros insetos e/ou vertebrados.

Dentre os tipos de ninhos construídos por vespas sociais, podemos citar 4 tipos básicos. O primeiro é o estelocítaro gimnódomo, constituído por um favo ou mais, sem envelope protetor, preso ao substrato por um pedúnculo, condição considerada plesiomórfica e encontrada em espécies dos gêneros *Mischocyttarus*, *Polistes*, *Agelaia* e *Apoica*. O segundo é o ninho astelocítaro, formados por um único favo com invólucro de proteção e cujas células estão ligadas diretamente ao substrato, observados nos gêneros: *Synoeca*, *Metapolybia*, *Clypearia*, *Asteloeca*, *Nectarinella* e *Marimbonda* (Carpenter & Marques 2001, Andena *et al* 2009). Em ninhos fragmocítaros, o terceiro tipo, o favo inicial é ligado ao substrato e um envelope protetor é construído ao redor; e, favos subsequentes são construídos por adição de células na parte inferior do envelope, condição encontrada em espécies dos gêneros *Polybia*, *Brachygastra*, *Protonectarina*, *Epipona* e *Chartergus* (Wenzel 1991, 1998, Carpenter & Marques 2001, Andena *et al* 2009). Finalmente, o quarto tipo, denominado caliptódomo, é constituído por favos com diversas variações estruturais, mas que é circundado por um envelope de proteção, comum em *Parachartergus*.

O ninho é importante ainda porque nele acontecem todas as interações entre os indivíduos da colônia, os quais trocam sinais de diferentes origens, sobretudo sinais

químicos, cujos compostos são em parte conseguidos por meio de interações com os imaturos, adultos e com o próprio substrato do ninho (Billen 2006).

Dentre o grande número de sinais químicos, os compostos não voláteis, conhecidos como hidrocarbonetos cuticulares (HCs) e que constituem parte da camada lipídica que recobre a cutícula dos insetos, têm recebido maior atenção nas últimas décadas (Howard *et al* 1982, Bonavita-Cougourdan *et al* 1987, Dapporto *et al* 2005, Cotoneschi *et al* 2009, Blomquist & Bagnères 2010). Estes HCs apresentam grande importância para o estabelecimento da organização social e consequentemente representam grande parte das pesquisas sobre os processos utilizados no reconhecimento de co-específicos (Lorenzi *et al* 1997).

Trabalhos como os de Ross & Gamboa (1981) e Gamboa *et al* (1986a,b) descrevem que adultos de vespas eussociais necessitam ter contato com o ninho um certo período de tempo para adquirirem o perfil químico característico da colônia e consequentemente poder reconhecer as companheiras de ninhos. Isso é possível porque cada vespa logo após a emergência adquire parte do odor do próprio ninho natal, e utiliza-o como uma referência para comparar os fenótipos químicos de indivíduos encontrados na colônia (Gamboa 1996, Singer 1998, Gamboa 2004). Este odor é basicamente uma mistura de hidrocarbonetos que cada vespa traz em sua cutícula e utiliza-o como um sinal de aceitação (Singer & Espelie 1996, Singer *et al* 1992). Este sistema de reconhecimento permite uma discriminação mais eficiente do ninho natal, de modo que uma colônia torna-se uma fortaleza bem defendida contra intrusos. Contudo, a importância do ninho como fonte destes sinais químicos ainda é pouco explorada, pois a maioria dos estudos estão direcionados aos indivíduos adultos.

Estudos têm mostrado ainda que vespas parasitas sociais usam como estratégia química, a ausência de odor e/ou mimetismo químico, para enganar as hospedeiras (Bagnères *et al* 1996, Turillazzi *et al* 2000, Sledge *et al* 2001, Lorenzi & Bagnères 2002, Dapporto *et al* 2004, Lorenzi *et al* 2004, Lorenzi 2006, Neves *et al* 2012). No entanto,

Panek & Gamboa (2000) sugeriram que rainhas de *Polistes fuscatus* (Fabricius) são capazes de diferenciar larvas da espécie parasita de suas próprias larvas, sugerindo que o perfil químico para o reconhecimento larval é provavelmente a mesma mistura de hidrocarbonetos que media o reconhecimento em adultos diferindo apenas na concentração. Neste sentido, em estudo mais recente, Cotoneschi *et al* (2007) investigaram a variação de hidrocarbonetos cuticulares de larvas de *Polistes dominula* (Christ) encontrando compostos específicos deste estágio. Outros estudos evidenciam que a mistura de hidrocarbonetos do favo é similar a da cutícula dos indivíduos adultos da colônia (Espelie *et al* 1990, Espelie & Hermann 1990).

Este perfil de HCs vem sendo utilizado também como ferramenta taxonômica para propor relações interespecíficas, como por exemplo, os trabalhos de Jallon & David (1987) com espécies de moscas do gênero *Drosophila*, Bagnères *et al* (1991) em térmitas do gênero *Reticulitermes*, Sutton & Carlson (1993) em larvas de tefritídeos, Elmes *et al* (2002) em borboletas do gênero *Myrmica* e Braga *et al* (2013) em moscas Sarcophagidae.

Portanto, fica cada vez mais claro que compostos químicos, tanto da cutícula dos indivíduos quanto do ninho fazem parte de um complexo sistema de sinais que medeiam as interações dentro das colônias de vespas sociais. E que, a mistura de compostos por ser específica da colônia e, por que pode variar por conta de fatores genéticos e exógenos, pode ser usada como ferramenta taxonômica para avaliar relações intra e interespecíficas.

Referências Bibliográficas

Andena SR, Carpenter JM, Pickett KM (2009) Phylogenetic analysis of species of the neotropical social wasp *Epipona* Latreille, 1802 (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae, Epiponini). Zoo Keys 20: 385-398

Andrade CLT, Bores Júnior JCF, Couto L (2008) Características físico-hídricas e dinâmica de água no solo, p.71-149. In Albuquerque PEP, Durães FOM (eds) Uso e manejo de irrigação. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 528p

Antonialli-Junior WF, Lima SM, Andrade LH, Suarez YR (2007) Comparative study of the cuticular hydrocarbon in queens, workers and males of *Ectatomma vizottoi* (Hymenoptera, Formicidae) by Fourier transform-infrared photoacoustic spectroscopy. Genet Mol Res 6: 492-499

Antonialli-Junior WF, Suarez YR, Izida T, Andrade LH (2008) Intra and interspecific variation of cuticular hydrocarbon composition in two *Ectatomma* species (Hymenoptera: Formicidae) based on Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. Genet Mol Res 7: 559-566

Arab A, Pietrobon TAO, Britto FB, Rocha T, Santos L, Barbieri EF, Fowler HG (2003) Key to the nests of Brazilian Epiponini wasps (Vespidae: Polistinae). Sociobiology 42: 425-432

Bagnères AG, Killian A, Clément JL, Lange C (1991) Interspecific recognition among termites of the genus *Reticulitermes*: Evidence for a role for the cuticular hydrocarbons. J Chem Ecol 17: 2397-2420

Bagnères AG, Lorenzi MC, Clément JL, Dusticier G, Turillazzi S (1996) Chemical usurpation of a nest by paper wasp parasites. Science 272: 889-892

Billen J (2006) Morphology and ultrastructure of the Dufour gland in workers of social wasps (Hymenoptera, Vespidae). Arthropod Struct Dev 35: 77-84

Bonavita-Cougourdan A, Clément JL, Lange C (1987) Nestmate recognition: the role of cuticular hydrocarbons in the ant *Camponotus vagus* Scop. J Entomol Sci 22: 1-10

Braga MV, Zeneida TP, Queiroz MMC, Matsumoto N, Blomquist GJ (2013) Cuticular hydrocarbons as a tool for the identification of insect species: Puparial cases from Sarcophagidae. Acta Trop 128: 479-485

Butignol CA (1992) Observações sobre a bionomia da vespa predadora *Polistes versicolor* (Olivier, 1791) (Hymenoptera, Vespidae) em Florianópolis/SC. An Soc Entomol Bras 19(2): 201-206

Caires EF, Garbuió FJ, Churka S, Barth G, Corrêa JCL (2008) Effects of soil acidity amelioration by surface liming on no-till corn, soybean, and wheat root growth and yield. Eur J Agron 28: 57-64

Carpenter JM (1991) Phylogenetic relationships and the origin of social behavior in the Vespidae, p. 7-32. In Ross KG, Mathews RW (eds.) The Social Biology of Wasps. Ithaca, Comstock Publishing Associates, xii+678 p

Carpenter JM, Marques OM (2001) Contribuição ao estudo dos vespídeos do Brasil (Insecta, Hymenoptera, Vespoidea, Vespidae). Cruz das Almas, Universidade Federal da Bahia - Publicações digitais, 147p

Corbara B, Carpenter JM, Céréghino R, Leponce M, Gibernau M, Dejean A (2009) Diversity and nest site selection of social wasps along Guianese forest edges: assessing the influence of arboreal ants. C R Biol 332: 470-479

Cotoneschi C, Dani FR, Cervo R, Scala C (2009) *Polistes dominulus* (Hymenoptera, Vespidae) larvae show different cuticular patterns according to their sex: workers seem not use this chemical information. Chem Senses 34: 195-202

Cotoneschi C, Dani FR, Cervo R, Sledge MF, Turillazzi S (2007) *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) larvae have their own chemical signatures. J Insect Physiol 53: 954-963

Dapporto L, Cervo R, Sledge MF, Turillazzi S (2004) Rank integration in dominance hierarchies of host colonies by the paper wasp social parasite *Polistes sulcifer* (Hymenoptera, vespidae) J Insect Physiol 50: 217-223

Dapporto L, Sledge MF, Turillazzi S (2005) Dynamics of cuticular chemical profiles of *Polistes dominulus* workers in orphaned nests. J Insect Physiol 51: 969-973

Dietermann V, Peeters C, Liebig J, Thivet V (1992) Cuticular hydrocarbons mediate discrimination of reproductives and non reproductives in the ant *Myrmecia gulosa*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100: 10341-10346.

Elmes GW, Akino T, Thomas JA, Clarke RT, Knapp JJ (2002) Interspecific differences in cuticular hydrocarbon profiles of *Myrmica* ants are sufficiently consistent to explain host specificity by *Maculinea* (large blue) butterflies. Oecologia 130: 525-535

Espelie KE, Wenzel JW, Chang G (1990) Surface lipids of social wasp *Polistes metricus* Say and its nest and nest pedicel and their relation to nestmate recognition. J Chem Ecol 16: 2229-2241

Espelie KE, Hermann HR (1990) Surface lipids of the social wasp *Polistes annularis* (L.) and its nest and nest pedicel. J chem Ecol 16: 1841-1852

Evans HE (1958) The evolution of social life in wasps. Proc Intern Congr Entomol 10th, Montreal, 2: 613-617

Evans HE, West-Eberhard MJ (1970) The Wasps. Ann Arbor, University of Michigan Press, 265p.

Fowler, HG (1983) Human effects on nest survivorship of urban synanthropic wasps. Urban Ecol 7: 137-143.

Gadagkar R (1991) *Belonogaster*, *Mischocyttarus*, *Parapolybia*, and independent founding *Ropalidia*. In Ross KG, Mathews RW (eds.) *The Social Biology of Wasps*. Ithaca, Comstock Publishing Associates, xii+678 p

Gamboa GJ (1996) Kin Recognition in Social Wasps. In Turillazzi S, West-Eberhard MJ (eds.) *Natural History and Evolution of Paper Wasps* Oxford, University Press, Oxford, 161-177p.

Gamboa GJ (2004) Kin recognition in eusocial wasps. *Ann Zool Fenn* 41:789-808

Gamboa GJ, Grudzier TA, Espelie KA, Bura EA (1996) Kin recognition pheromones in social wasps: Combining chemical and behavioural evidence. *Anim Behav* 51: 625-629

Gamboa GJ, Reeve HK, Ferguson I, Wacker TL (1986b) Nestmate recognition in social wasps: The origin and acquisition of recognition odours. *Anim. Behav.* 34: 685-695.

Gamboa GJ, Reeve HK, Pfennig DW (1986a) The evolution and ontogeny of nestmate recognition in social wasps. *Annu Rev Entomol* 31: 431-454

Giannotti E, Machado VLL (1994) The seasonal variation of brood stages duration of *Polistes lanio* (Fabricius, 1775) (Hymenoptera, Vespidae). *Naturalia* 19: 97-102.

Giannotti E, Mansur CB (1993) Dispersion and foundation of new colonies in *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae). *An Soc Entomol Bras* 22(2): 307-316.

Greene RV, Gordon SH, Jackson MA, Bennett GA (1992) Detection of fungal contamination in corn: potential of FTIR-PAS and DRS. *J Agric Food Chem* 40: 1144-1149

Haverty MI, Nelson LJ, Thorne BL, Collins MS, Darlington JPEC, Page M, (1992) Cuticular hydrocarbons for species determination of tropical termites, p.58-66. In Conrad EC, Newell LA (eds.) *Proceedings on the Session on Tropical Forestry for People of the Pacific*, XVII Pacific Science Congress, Berkeley

Howard RW, McDaniel CA, Nelson DR, Blomquist GJ, Gelbaum LT, Zalkow, LH (1982) Cuticular hydrocarbons of *Reticulitermes virginicus* (Banks) (Isoptera, Rhinotermitidae) and their role as potential species-recognition and caste-recognition cues. *J Chem Ecol* 8: 1227-1239

Hunt JH, Carpenter JM (2004) Intra-specific Nest Form Variation in Some Neotropical Swarm-founding Wasps of the Genus *Parachartergus* (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini). *J Kans Entomol Soc* 77(4): 448-456

Irudayaraj J, Yang H, Sakhamuri S (2002) Differentiation and detection of microorganisms using fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. *J Mol Struct* 606: 181-188.

Jallon JM, David JR (1987) Variations in cuticular hydrocarbons among the eight species of the *Drosophila melanogaster* subgroup. *Evolution* 41: 294-302.

Jeanne RL (1970) Chemical Defense of Brood by a Social Wasp. *Science* 168(3938): 1465-1466.

Jeanne RL (1975) The adaptiveness of social wasp nest architecture. *Q Rev Biol* 50: 267-87.

Jeanne RL (1979) A latitudinal gradient in rates of ant predation. *Ecology* 60: 1211-1224.

Jeanne RL (1980) Evolution of social behavior in the Vespidae. *Annu Rev Entomol* 25: 371-396

Jeanne RL (1991) The swarm-founding Polistinae, p.191–231. In Ross KG, Mathews RW (eds.) *The Social Biology of Wasps*. Ithaca, Comstock Publishing Associates, xii+678 p

Jeanne RL, Morgan RC (1992) The influence of temperature on nest site choice and reproductive strategy in a temperate zone *Polistes* wasp. *Ecol Entomol* 17: 135-141

- Jeanne RL (1996) Regulation of nest construction behaviour in *Polybia occidentalis*. Anim Behav 52: 473-488.
- Jones JC, Oldroyd BP (2007) Nest thermoregulation in social insects. Adv Insect Physiol 33: 153–191
- Judd TM (1998) Defensive Behavior of Colonies of the Paper Wasp, *Polistes fuscatus*, against Vertebrate Predators over the Colony Cycle. Insectes Soc 45(3): 347-47
- Klahn JE (1979) Philopatric and nonphilopatric foundress associations in the social wasp *Polistes fuscatus*. Behav Ecol Sociobiol 5: 417-424
- Layton JM, Camann MA, Espelie KE (1994) Cuticular lipid profiles of queens, workers, and males of social wasps *Polistes metricus* Say are colony specific. J Chem Ecol 20(9): 2307-2320.
- Layton JM, Espelie KE (1995) Effects of nest paper hydrocarbons on nest and nestmate recognition in colonies of *Polistes metricus* Say. J Insect Behav 8: 103-113.
- Lima MAP, Lima JR, Prezoto F (2000) Levantamento dos gêneros, flutuação das colônias e hábitos de nidificação de vespas sociais (Hymenoptera, Vespidae), no campus da UFJF, Juiz de Fora, MG. Rev Bras Zooc 2: 69-80
- Lockey KH (1988) Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. Comp Biochem Physiol B 89: 595-645.
- Lorenzi MC (2006) The result of an arms race: The chemical strategies of *Polistes* social parasites. Ann Zool Fenn 43: 550-563.
- Lorenzi MC, Bagnères AG (2002) Concealing identity and mimicking hosts: A dual chemical strategy for a single social parasite? (*Polistes atrimandibularis*, Hymenoptera: Vespidae). Parasitology 125: 507-512.
- Lorenzi MC, Bagnères AG, Clément JL, Turillazzi S (1997) *Polistes biglumis bimaculatus* epicuticular hydrocarbons and nestmate recognition (Hymenoptera, Vespidae). Insectes Soc 44: 123-138

Lorenzi MC, Cervo R, Zacchi F, Turillazzi S, Bagnères AG (2004) Dynamics of chemical mimicry in the social parasite wasp *Polistes semenovi* (Hymenoptera Vespidae). *Parasitology* 129: 643-651

McGlynn PT (2012) The ecology of nest movement in social insects. *Annual Review of Entomology*, 57: 291-308

Michaelian KH (2003) Photoacoustic Infrared Spectroscopy. John Wiley & Sons, Interscience, Hoboken, New Jersey, 335p

Monnin T (2006) Chemical recognition of reproductive status in social insects. *Ann Zool Fenn* 43: 515–530

Nascimento FS, Tannure-Nascimento IC, Mateus S (2008) Vespas Sociais Neotropicais: padrões comportamentais, regulação social e arquitetura de ninho, p.47-67. In Vilela EF, Santos IA, Schoreder JH, Serrão JE, Campos LAO, Lino-Neto J (Eds.) *Insetos sociais: da biologia à aplicação*. Viçosa, Editora UFV, 442p

Neves EF, Andrade LHC, Suárez YR, Lima SM, Antonialli-Junior WF (2012) Age-related changes in the surface pheromones of the wasp *Mischocyttarus consimilis* (Hymenoptera: Vespidae). *Genet Mol Res* 11(3):1891-1898.

Neves EF, Montagna TS, Andrade LHC, Suárez YR, Lima SM, Antonialli-Junior WF (2013) Social parasitism and dynamics of cuticular hydrocarbons in paper wasps of the genus *Mischocyttarus*. *J Kans Entomol Soc* 86(1): 69-77

Page RE, Post DC, Metcalf RA (1989) Satellite nests, early males, and plasticity of reproductive behavior in a paper wasp. *Am Nat* 134: 731-748

Panek LM, Gamboa GJ (2000) Queens of the paper wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera, Vespidae) discriminate among larvae on the basis of relatedness. *Ethology* 106: 159-170.

Panek LM, Gamboa GJ, KE Espelie (2001) The effect of a wasp's age on its cuticular hydrocarbon profile and its tolerance by nestmate and non-nestmate conspecifics (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae). *Ethology* 107: 55-63.

Prezoto F, Clement MA (2010) Vespas sociais do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. *MG Biota* 3(4): 22-32

Prezoto F, Ribeiro-Jr C, Guimarães DL, Elisei T (2008) Vespas sociais e o controle biológico de pragas: atividade forrageadora e manejo das colônias, p. 413-427. In Vilela EF, Santos IA, Schoreder JH, Serrão JE, Campos LAO, Lino-Neto J (Eds.) *Insetos sociais: da biologia à aplicação*. Viçosa, Editora UFV, 442p.

Prezoto F, Ribeiro-Júnior C, Oliveira SA, Elisei T (2007) Manejo de vespas e marimbondos em ambiente urbano, p.125-130. In Pinto AS, Rossi MM, Salmeron E (Eds.). *Manejo de Pragas Urbanas*, Piracicaba, 234p

Provost MP, Troje NF, Quinsey VL (2008) Short-term mating strategies and attraction to masculinity in point-light walkers. *Evol Human Behav* 29: 65-69

Reeve HK (1991) *Polistes*, p. 99-148. In Ross KG, Mathews RW (eds.) *The Social Biology of Wasps*. Ithaca, Comstock Publishing Associates, xii+678 p

Richards OW, Richards MJ (1951) Observations on the social wasps of South America (Hymenoptera, Vespidae). *Trans R Entomol Soc Lond* 102: 1-170

Ross NM, Gamboa GJ (1981) Nestmate discrimination in social wasps (*Polistes metricus*, Hymenoptera: Vespidae). *Behav Ecol Sociobiol* 9: 163-165

Santos GMM, Bichara FCC, Resende JJ, Cruz JD, Marques OM (2007) Diversity and community structure of social wasps (Hymenoptera, Vespidae) in three ecosystems in Itaparica Island, Bahia State, Brazil. *Neotrop Entomol* 36: 180-185

Santos GP, Zanuncio JC, Pires EM, Prezoto F, Pereira JMM, Serrão JE (2009) Foraging of *Parachartergus fraternus* (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini) in cloudy and sunny days. *Sociobiology* 53(2): 431-441

Silva-Pereira V, Santos GMM (2006) Diversity in bee (Hymenoptera: Apoidea) and social wasp (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae) community. *Neotrop Entomol* 35(2): 165-174

Silveira OT (2002) Surveying Neotropical Social Wasps. An evaluation of methods in the “Ferreira Penna” research station (ECFPN), in Caxiuanã, PA, Brazil (Hym., Vespidae, Polistinae). *Papéis Avulsos de Zoologia* 42(12): 299-323

Silverstein RM, Webster FX (2000) Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 6ª ed. Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos, 530p

Singer TL (1998) Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. *Am Zool* 38: 394-405

Singer TL, Camann, MA, Espelie KE (1992) Discriminant analysis of cuticular hydrocarbons of social wasp *Polistes exclamans* Viereck and nest surface hydrocarbons of its nest paper and pedicel. *J Chem Ecol* 18: 785-797

Singer TL, Espelie KE (1996) Nest surface hydrocarbons facilitate nestmate recognition for the social wasp, *Polistes metricus* Say (Hymenoptera: Vespidae). *J Insect Behav* 9: 857-870

Skoog, DA, Holler FJ, Nieman TA (2002) Princípios de Análise Instrumental. 5ª ed. Bookman 836p

Sledge MF, Boscaro F, Turillazzi S (2001) Cuticular hydrocarbons and reproductive status in the social wasp *Polistes dominulus*. *Behav Ecol Sociobiol* 49: 401-409

Smith AR, O'Donnell S, Jeanne RL (2002) Evolution of swarm communication in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *J Insect Behav* 15: 751-764

Soares ERP, Torres VO, Antonialli-Junior WF (2014) Reproductive status of females in the eusocial wasp *Polistes ferreri* Saussure (Hymenoptera: Vespidae). *Neotrop Entomol* 43: 500-508

Somavilla A, Oliveira ML, Silveira OT (2012) Guia de identificação dos ninhos de vespas sociais (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae) na Reserva Ducke, Manaus, Amazonas, Brasil. Rev Bras Entomol 56(4): 405-414

Souza MM, Zanuncio JC (2012) Marimbondos - Vespas sociais (Hymenoptera: Vespidae). Visçosa, Editora UFV, 79p.

Starr CK (1991) The nest as the locus of social life, p.520-539. In Ross KG, Mathews RW (eds.) The Social Biology of Wasps. Ithaca, Comstock Publishing Associates, xii+678 p

Strassmann JE (1981) Wasp reproduction and kin selection: Reproductive competition and dominance hierarquies among *Polistes annularis* foundresses. Fla Entomol 64(1): 74-88

Sumana A, Liebert AE, Berry S, Switz GT, Orians CM, Starks PT (2005) Nest hydrocarbons as cues for philopatry in a paper wasp. Ethology 111: 469-477. doi: 10.1111/j.1439-0310.2005.01072.x

Tannure-Nascimento IC, Nascimento FS, Turatti IC, Lopes NP, Trigo JR, Zucchi R (2007) Colony membership is reflected by variations in cuticular hydrocarbon profile in a Neotropical paper wasp, *Polistes satan* (Hyme-noptera, Vespidae). Genet Mol Res 6: 290-296

Torres VO, Sguarizi-Antonio D, Lima SM, Andrade LHC, Antonialli-Junior WF (2014) Reproductive status of the social wasp *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae). Sociobiology 61(2): 218-22

Turillazzi S, Sledge MF, Dani FR, Cervo R, Massolo A, Fondelli L. (2000) Social hackers: integration in the host chemical recognition system by a paper wasp social parasite. Heidelb Schr Pharm- Natwissgesch 87: 172-176

Wenzel JW (1991) Evolution of nest architecture, p.480-519. In Ross KG, Mathews RW (eds.) *The Social Biology of Wasps*. Ithaca, Comstock Publishing Associates, xii+678 p

Wenzel JW (1992) Behavioral homology and phylogeny. *Annu Rev Ecol Syst* 23: 361-381.

Wenzel JW (1998) A generic key to the nests of hornets, yellowjackets, and paper wasps worldwide (Vespidae: Vespinae, Polistinae). *Am Mus Novit* 3224: 1-39.

West-Eberhard MJ (1969) *The Social Biology of Polistine Wasps*. Michigan, Misc Publ Mus Zool Univ Mich 140: 101p

West-Eberhard MJ (1996) Wasp societies as microcosms for the study of development and evolution, p.290-317. In Turillazzi S, West-Eberhard MJ (Eds.) *Natural History and Evolution of Paper Wasps*, Oxford University Press, Oxford, 416p

Objetivo Geral

Este estudo teve por objetivo avaliar a variação intra e interespecífica da composição química dos ninhos de vespas sociais do gênero *Polistes*.

Hipóteses

Há variação do perfil químico entre diferentes regiões dos ninhos de 3 espécies de vespas sociais do gênero *Polistes*.

Há variação entre os perfis químicos dos ninhos de 3 espécies de vespas do gênero *Polistes*, sendo que, estes compostos químicos do ninho poderiam ser utilizados como ferramenta taxonômica complementar.

Há variação do perfil químico entre diferentes ambientes de coleta para as espécies de vespas sociais *Polistes*.

Capítulo 1 – Variação dos Compostos Químicos de Diferentes Regiões nos Ninhos de Vespas do Gênero *Polistes* (Hymenoptera: Vespidae) por FTIR-PAS

RF Torres¹ & WF Antonialli-Junior^{1,2}

¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, Brasil

²Laboratório de Ecologia Comportamental, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados-MS, Brasil

Autor correspondente: RF Torres. Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade. Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Dourados-MS, Brasil. 79804-970. romario_torresmn@hotmail.com.

Resumo: Uma das funções do ninho em insetos sociais, além de fornecer abrigo, é promover a coesão dos membros da colônia, por meio de um local comum no qual os indivíduos interagem uns com os outros. Neste sentido, a estrutura física do ninho é extremamente importante para a troca de sinais, principalmente sinais químicos, os quais atuam diretamente no reconhecimento de companheiras de ninho. Contudo, pouco se sabe do papel dos compostos dos ninhos como sinais químicos na composição da assinatura química colonial de vespas sociais. Portanto, este trabalho objetivou avaliar se existem diferenças no perfil químico de diferentes regiões dos ninhos de 3 espécies de vespas do gênero *Polistes*. De cada ninho foram extraídos amostras de 6 regiões distintas: pedúnculo, mecônio e regiões inferior, lateral, mediana e superior das células do favo. As amostras foram analisadas pela técnica de Espectroscopia de absorção no Infravermelho Médio por Detecção Fotoacústica (FTIR-PAS), que permitiu identificar grupos químicos moleculares

de hidrocarbonetos presentes no material do ninho. Os espectros médios resultantes da leitura de cada região indicaram diferenças significativas que foram confirmadas pelas análises estatísticas. Neste sentido, o mecônio e pedúnculo têm perfil químico mais diferente das demais amostras e, dessa forma, é possível concluir que o ninho possui três regiões quimicamente distintas: a região das células do favo; o mecônio; e o pedúnculo. Provavelmente sejam diferentes por conta do grau de interação de cada uma das regiões com indivíduos de diferentes estágios de desenvolvimento.

Palavras-chave: Hidrocarbonetos; perfil químico; ninho; Polistinae.

Abstract: One of the functions nest in social insects, besides providing shelter, is to promote the cohesion of the colony members through a common location in which individuals interact with each other. In this regard, the physical structure of the nest is extremely important for the exchange of signals, primarily chemical signals, which act directly on recognition nestmates. However, little is known about the role of the nests compounds as chemical signals in the composition of colonial chemical signature of the social wasps. Therefore, this study aimed to evaluate whether there are differences in the chemical profile of different regions of the nests of three species of wasps *Polistes* genre. Each nest samples from 6 different regions were extracted: peduncle, meconium and regions inferior, lateral, median and superior of the comb cells. The samples were analyzed by Fourier Transform Infrared Photoacoustic Spectroscopy (FTIR-PAS), which allowed identify molecular chemical groups of hydrocarbon present in the nest material. The average spectra resulting from the reading of each region indicated significant differences which were confirmed by statistical analysis. In this sense, the meconium and peduncle have more different chemical profile of the other samples, and thus it can be concluded that the nest has three regions of chemically distinct: the region of the comb cells, meconium

and peduncle, probably different on account of the degree of interaction of each region with individuals of different development stages.

Key Words: Hydrocarbons; chemical profile; nest; Polistinae.

Introdução

As vespas sociais da subfamília Polistinae constroem ninhos expostos utilizando matéria vegetal (West-Eberhard 1969) triturada e misturada com água e secreção salivar, resultando num produto semelhante ao papel (Richards & Richards 1951). Por isso são conhecidas como “vespas papel”. A presença ou não de envelope protetor ou mesmo de um pedúnculo constitui considerável valor taxonômico, filogenético, comportamental, ecológico e evolutivo (Hunt & Carpenter 2004).

A arquitetura dos ninhos evoluiu influenciada por fatores físicos do ambiente, necessidades estruturais do ninho, custo energético de sua construção e manutenção, predação, parasitismo e necessidades sociais da espécie (Jeanne 1975).

Uma das funções do ninho, além de abrigo, é a de promover a coesão dos membros da colônia, fornecendo um local comum no qual os indivíduos interagem uns com os outros. Neste sentido, estas interações acontecem na forma de troca de sinais de diferentes origens, sobretudo químicos, cujos compostos são em parte conseguidos por meio de interações de imaturos e adultos com o próprio substrato do ninho (Billen 2006). Estes compostos químicos podem variar entre as espécies, entre colônias e até mesmo entre populações (Layton *et al* 1994, Dapporto *et al* 2004a, Tannure-Nascimento *et al* 2007).

Os sinais químicos utilizados no reconhecimento de companheiras de ninho podem ser determinados tanto por componentes genéticos (Ratnieks 1991) quanto por fatores ambientais (Ratnieks 1991, Gamboa 1996).

Dentre o grande número de sinais químicos, os compostos não voláteis, conhecidos como hidrocarbonetos cuticulares (HCs), são de grande relevância para o estabelecimento da organização social e consequentemente representam grande parte das pesquisas sobre semioquímicos utilizados no processo de reconhecimento de coespecíficos (Lorenzi *et al* 1997). Os HCs são compostos formados basicamente de hidrogênio e carbono e constituem parte da camada lipídica que recobre a cutícula dos insetos e, cuja principal função é evitar dessecação dos insetos (Lockey 1988). Além disso, são também conhecidos como feromônios de superfície desempenhando fundamental importância em insetos sociais, uma vez que são responsáveis pelo reconhecimento de membros da mesma espécie, indivíduos da mesma colônia e ainda membros de castas diferentes (Blomquist *et al* 1998, Lenoir *et al* 1999), podendo assim ser considerado como uma assinatura química específica. Além disso, são importantes para a organização social, pois coordenam as atividades básicas para a manutenção e desenvolvimento da colônia, como defesa, recrutamento e forrageio (Billen & Morgan 1998).

Secreções glandulares podem ainda auxiliar na formação do perfil químico dos indivíduos (Bagnères & Morgan 1991, Soroker *et al* 1994, Dani *et al* 1996) e, consequentemente ter papel importante nos mecanismos de reconhecimento. Bagnères & Morgan (1991) e Soroker *et al* (1994) observaram em formigas que a glândula pós-faríngea possui hidrocarbonetos que também são encontrados na cutícula dos adultos. Estes compostos podem ser transmitidos por meio de comportamentos de auto-limpeza ou limpeza coletiva. Em vespas sociais, por exemplo, Mitra & Gadagkar (2014) observaram que os mesmos hidrocarbonetos encontrados no perfil químico cuticular de adultos de *Ropalidia marginata* (Lepeletier) são encontrados nas glândulas de Dufour, inclusive em proporções similares.

Os ninhos de vespas sociais também têm se mostrado importante para compor a assinatura química da colônia e dos indivíduos em diferentes estágios de desenvolvimento

(Espelie & Hermann 1990, Espelie *et al* 1990, Gamboa *et al* 1996, Costanzi *et al* 2013, Signorotti *et al* 2014). Trabalhos com *Polistes metricus* (Say) e outras espécies de vespas sociais descreveram que operárias e gines necessitam ter contato com o ninho um certo período de tempo para adquirirem o perfil químico característico da colônia e consequentemente poder reconhecer suas companheiras de ninho. De acordo com Espelie & Hermann (1990) e Espelie *et al* (1990) a mistura de compostos químicos do ninho é similar aos encontrados na cutícula dos indivíduos adultos. Singer & Espelie (1997) observaram que a exposição dos indivíduos adultos aos hidrocarbonetos do ninho é importante para o reconhecimento, uma vez que em seus testes, as operárias que permaneceram em ninhos cujos hidrocarbonetos foram removidos não foram capazes de reconhecer seus próprios ninhos.

Segundo Gamboa (1996), os adultos de vespas sociais, em geral, podem absorver componentes do próprio material do ninho, o que contribui para a assinatura característica dos adultos na colônia e auxilia no processo de reconhecimento de companheiras de ninho. Dessa forma, o perfil químico do ninho é influenciado pelo tipo de material de construção coletado e pelas secreções glandulares e, por consequência, influencia o perfil dos indivíduos da colônia.

Layton & Espelie (1995) observaram que fêmeas de *P. metricus* com 4 dias de vida são capazes de reconhecer seu ninho natal e Panek *et al* (2001) constataram que após o terceiro e quarto dia após a emergência, os adultos já adquiriram o perfil químico da colônia, provavelmente por conta das interações com os outros indivíduos e com o ninho. Trabalhos como os de Klahn (1979), Reeve (1991), e Sumana *et al* (2005) evidenciam a forte relação entre os HCs dos indivíduos e o perfil químico do ninho de vespas sociais, uma vez que eles observaram que as fêmeas após o período de hibernação saem em busca de locais adequados para fundar novas colônias e acabam retornando ao local de seu sítio natal para realizarem novas fundações, fenômeno conhecido como filopatria.

As técnicas cromatográficas, como a Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAF), são as mais utilizadas até o momento para identificação do perfil químico de hidrocarbonetos cuticulares de insetos sociais (Dietermann *et al* 1992). Apesar destas técnicas exigirem várias etapas de preparação das amostras, são confiáveis e oferecem boas análises qualitativas e quantitativas. Contudo, mais recentemente outra técnica vem sendo utilizada com grande potencial para este tipo de análise, a Espectroscopia de Absorção no Infravermelho Médio por Detecção Fotoacústica (FTIR-PAS) (Antonialli-Junior *et al* 2007, Antonialli-Junior *et al* 2008, Neves *et al* 2012, Neves *et al* 2013, Torres *et al* 2014, Soares *et al* 2014). As principais vantagens desta técnica são: ser relativamente rápida em relação ao tempo de obtenção de resultados e não destrutiva (Sivakesava *et al* 2004), de fácil manuseio, com boa resolução e alta sensibilidade (Skoog *et al* 2002).

Dessa forma, como os trabalhos anteriores demonstram que há uma clara relação entre os compostos químicos da cutícula dos indivíduos e do substrato do ninho de vespas sociais e que estes compostos dependem da interação entre eles. Visto que, o gênero *Polistes* possui distribuição cosmopolita e é considerado um “gênero-chave” para a compreensão da evolução de vespas sociais bem como é facilmente encontrado na área de estudo, o objetivo deste trabalho foi avaliar se há variação da composição química entre diferentes regiões nos ninhos de 3 espécies de vespas sociais do gênero *Polistes*.

Material e Métodos

Coleta de material

A coleta das colônias foi realizada no município de Mundo Novo-MS, região Centro-Oeste do Brasil (latitude: 23°56'17", longitude: 54°16'15"). As colônias e seus ninhos foram coletadas com o auxílio de um recipiente plástico contendo algodão umedecido com éter, que em seguida foi retirado para evitar degradação/decomposição dos

compostos químicos. Após a coleta, os ninhos foram acondicionados em postes plásticos transparentes e preservados em freezer até o momento de retirada das amostras. Posteriormente, a dissecação do ninho e retirada das amostras de cada parte foi realizada com o auxílio de pinça e as amostras acondicionadas em “eppendorfs” e, novamente conservadas em freezer até o momento da leitura no espectrofotômetro.

Foram avaliados os perfis químicos de 20 ninhos de *Polistes versicolor* (Olivier), 16 de *Polistes lanio* (Fabricius) e 10 ninhos de *Polistes ferreri* (Saussure). De cada ninho foram extraídos 10 amostras de 6 regiões distintas, sendo elas: pedúnculo, mecônio e regiões inferior, lateral, mediana e superior das células do favo (Fig. 01). Das 4 regiões das células do favo (inferior, lateral, mediana e superior) foram extraídas amostras de $\pm 0,5 \text{ cm}^2$. Já para o pedúnculo, devido à sua forma cilíndrica, as amostras dessa região tinham $\pm 0,5 \text{ cm}$ de comprimento e espessura variável, de acordo com o tamanho do ninho. Da região do mecônio, o qual é formado pelo conteúdo eliminado do trato digestório da larva após a pupação, foi extraída uma amostra por ninho de diâmetro de $\pm 0,4 \text{ cm}$.

Análise do perfil químico do ninho por FTIR-PAS

Cada amostra foi submetida à técnica de FTIR-PAS em um Espectrofotômetro Thermo-Nicolet Nexus 670, combinado com um detector Fotoacústico (MTEC-300). Essa etapa foi realizada no Grupo de Espectroscopia Óptica e Fototérmica da UEMS. O processo de medição baseia-se em um efeito fotoacústico causado quando a radiação infravermelha incide na superfície da amostra num ambiente fechado, a chamada célula fotoacústica (Rosencwaig 1980).

A técnica FTIR-PAS mede a radiação absorvida pela amostra na região espectral do infravermelho médio, de $4000 \text{ a } 400 \text{ cm}^{-1}$ (Silverstein & Webster 2000, Skoog *et al* 2002), a qual é sensível às vibrações de grupos químicos moleculares e, portanto, possibilita a identificação e distinção de radicais moleculares e dos tipos de ligações químicas (Smith

1999). A célula fotoacústica foi purgada com gás hélio durante a aquisição do espectro de cada amostra, com resolução de 16 cm^{-1} e os picos referentes principalmente às vibrações de hidrocarbonetos foram posteriormente identificados.

Análises estatísticas

Para avaliar as diferenças entre os perfis químicos dos ninhos de cada região amostrada nas 3 espécies de *Polistes* foram realizadas análises de função discriminante, a qual revela o conjunto de variáveis que melhor diferenciam os grupos analisados (Quinn & Keough 2002). A diferença entre os grupos foi indicada pelo Wilks's Lambda, sendo que valores próximos a zero indicam que os grupos não se sobrepõem, enquanto, valores próximos a 1 indicam elevada sobreposição entre os grupos e consequente inexistência de diferença significativa entre eles.

Após a realização das análises discriminantes foram construídas tabelas de distância ao quadrado de Mahalanobis (D^2) como medida de dissimilaridade entre cada região do ninho e para cada espécie avaliada, a partir das quais foram indicados os grupos que não diferiram entre si.

Resultados

As figuras 02, 03 e 04 apresentam os espectros médios das diferentes regiões dos ninhos, respectivamente, das espécies *P. ferrerii*, *P. lanio* e *P. versicolor*. Apenas por inspeção visual dos espectros médios é possível identificar diferenças entre as regiões dos ninhos de cada espécie analisada (Figs. 02, 03 e 04). Nas três espécies os espectros médios do mecônio e do pedúnculo possuem maior variação das posições de absorção para os picos analisados quando comparadas às demais regiões, principalmente os picos 2958 , 1376 e 1156 cm^{-1} que apresentam contornos menos definidos. As diferenças entre as regiões

analisadas foram confirmadas a partir das análises discriminantes, uma vez que para as 3 espécies houve diferenças significativas no perfil químico entre as 6 regiões.

A tabela 1 apresenta os 8 picos correspondentes aos grupos funcionais de compostos formados por átomos de carbono e hidrogênio, os quais provavelmente correspondem às bandas de hidrocarbonetos e também de grupos amida comumente encontrados durante a leitura. Estes picos foram selecionados a partir de trabalhos anteriores já realizados com o perfil cuticular de adultos de formigas e vespas sociais (Antonialli-Junior *et al* 2007, 2008, Neves *et al* 2012, 2013), e também a relação entre o perfil químico cuticular e o status reprodutivo em vespas de fundação independente (Torres *et al* 2014, Soares *et al* 2014).

Os picos 2915 e 1650 cm^{-1} , correspondentes aos grupos funcionais $-\text{CH}_2$ e $-\text{C}=\text{C}$ cis alceno e/ou $-\text{C}=\text{N}$ amida, respectivamente, foram importantes para a distinção do perfil químico das diferentes regiões do substrato dos ninhos nas 3 espécies de *Polistes* (Tabela 1). Os resultados demonstram que as seis regiões do ninho de *P. ferrerii* têm composição química significativamente diferente entre si (Wilks' lambda= 0,04; F= 7,80; $p < 0,001$), no qual a primeira raiz canônica explicou 50,2% dos resultados e a segunda 39,1%, portanto juntas explicam 89,3% do agrupamento. Dentre os 8 picos analisados, 6 (2915, 2877, 1650, 1457, 1376 e 1156 cm^{-1}) (Tab. 1 e Fig. 05) foram importantes para a separação dos grupos analisados.

As regiões estudadas dos ninhos de *P. lanio* também são significativamente diferentes (Wilks' lambda= 0,06; F= 14,52; $p < 0,001$). Neste caso, a primeira raiz canônica explicou 57,2% dos resultados e a segunda 34,5%, portanto juntas explicam 91,7% do agrupamento, e para os 8 picos analisados, 5 (2958, 2915, 2877, 2850 e 1650 cm^{-1}) foram importantes para a separação dos grupos analisados (Tab. 1 e Fig. 06).

Por fim, o resultado encontrado entre as diferentes regiões do ninho de *P. versicolor* também demonstra diferenças significativas entre as regiões do ninho analisadas (Wilks' lambda= 0,09; F= 11,44; $p < 0,001$). A primeira raiz canônica explicou 58,7% dos

resultados e a segunda 33,3%, portanto juntas explicam 92% do agrupamento, no qual os picos 2958, 2915, 2850, 1650, 1457 e 1376 cm^{-1} (Tab. 1 e Fig. 07) foram significativos para a separação das regiões analisadas.

As medidas de dissimilaridade entre as regiões do ninho estimadas a partir das distâncias de Mahalanobis (Tab. 03, 04 e 05) para as 3 espécies indicam que as regiões do mecônio e pedúnculo têm composição química mais distintas em relação às outras regiões do ninho, enquanto as demais regiões do favo são mais similares entre si, independente da espécie (Tab.03, 04 e 05).

Discussão

De acordo com Espelie *et al* (1990), Layton & Espelie (1995) e Gamboa *et al* (1996) o contato físico entre as vespas adultas com o substrato do ninho, sobretudo, no pedúnculo é importante porque elas adquirem componentes do próprio material do ninho e isso contribui para complementar a composição da assinatura característica da colônia e auxilia no processo de reconhecimento de companheiras de ninho.

Em relação a este “odor” adquirido pela colônia Espelie *et al* (1990) relatam que a existência de compostos ricos em hidrocarbonetos no ninho são importantes para a aquisição dessa assinatura e conseqüentemente para reconhecimento da colônia. De fato, o “odor” do ninho é usado como referência por vespas quando elas aprendem o odor da sua colônia e formam um modelo de reconhecimento após sua emergência (Gamboa *et al* 1996).

Além disto, várias secreções são depositadas no substrato do ninho para reforçar sua estrutura, especialmente na região do pedúnculo (Jeanne 1970, Turillazzi & Ugolini, 1979,

Kojima 1983), o que explicaria, ao menos em parte, as diferenças entre a composição química desta região com as outras partes do ninho.

De fato, a aplicação de secreções repelentes de formigas secretadas no pedúnculo por meio do comportamento de esfregar o sexto esternito gastral foi descrito por Jeanne (1972) em *Mischocyttarus drewseni* (Saussure), sendo muito comum nas espécies de fundação independente. O Órgão de Van der Vecht é uma estrutura usada para aplicar uma mistura complexa de hidrocarbonetos (Dani *et al* 2003), tanto no pedúnculo do ninho, onde desempenha função repelente (Turillazzi & Ugolini, 1978, London & Jeanne 2000) quanto sobre a superfície do ninho inteiro para induzir o reconhecimento da dominação por parte da rainha e inibir o desenvolvimento ovariano das subordinadas (Dapporto *et al* 2007a, Dapporto *et al* 2007b).

Já foi comprovado também que secreções de glândulas como as salivares e de Dufour possuem hidrocarbonetos que também são encontrados na cutícula dos adultos (Bagnères & Morgan 1991, Soroker *et al* 1994, Cruz-Landim & Abdalla 2002, Mitra & Gadagkar 2014). Portanto, secreções dessas glândulas podem ser depositadas no ninho, seja durante a construção ou durante interações entre os indivíduos, e consequentemente os compostos presentes nessas secreções podem fazer parte do perfil químico do ninho.

Outra região que segundo os resultados se destaca das demais é o mecônio, que é formado a partir do conteúdo eliminado do trato digestório da larva após a pupação (Gobbi & Zucchi 1985, Giannotti 1999), Logo seu conteúdo depende, ao menos em parte, da dieta da larva. De fato, as diferenças no perfil químico podem ser atribuídas, em parte, a fatores externos, como a alimentação e/ou tipo de alimento, uma vez que as espécies de *Polistes* não apresentam especificidade em relação às presas coletadas (Butignol 1992).

A maior similaridade entre o perfil químico das regiões do favo (mediana, lateral, superior e inferior) do que quando comparada ao mecônio e pedúnculo pode ser observada para as três espécies de *Polistes* ao analisar as Tab. 01, 02 e 03. Essa maior similaridade

pode decorrer do fato que essas regiões são compostas por materiais de construção e secreções similares, uma vez que o pedúnculo deve receber outros tipos de secreção, como a repelente a formigas e já o mecônio é a fezes da larva.

Gamboa *et al* (1986b) classificam os odores de reconhecimento presentes na superfície corporal de insetos sociais, de acordo com a sua origem, em “ambientais” e “hereditários”, portanto, esta discussão reforça a importância de que fatores exógenos, entre eles a dieta pode influenciar o perfil químico cuticular do adulto e, conseqüentemente do perfil químico do ninho.

Dessa forma, a partir dos resultados obtidos é possível concluir que o perfil químico das diferentes regiões dos ninhos de cada espécie de *Polistes* são diferentes entre si. Estas diferenças provavelmente são decorrentes do grau de interação com as vespas, sejam os adultos ou os imaturos em diferentes estágios de desenvolvimento na colônia, no qual as regiões do pedúnculo e mecônio se distanciam mais. Portanto, as células do favo podem ser mais influenciadas por fatores genéticos, específicos da espécie, enquanto o pedúnculo e o mecônio sofrem maior influência do ambiente e, conseqüentemente é mais influenciado pela dieta. Diante destes resultados e das amostras lidas conclui-se que o ninho pode ser quimicamente dividido em 3 regiões: mecônio, pedúnculo e células do favo.

Tabela 01. Número de onda, grupos funcionais e modo vibracional dos picos identificados nos espectros médios de absorção no infravermelho e utilizados para as análises da composição química do substrato dos ninhos nas espécies de vespas *Polistes ferreri*, *Polistes lanio* e *Polistes versicolor*.

Picos	Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Modo vibracional
1	2958 ^{b,c}	-C-H (CH ₃)	Estiramento assimétrico
2	2915 ^{a,b,c}	-CH ₂	Estiramento assimétrico
3	2877 ^{a,b}	-C-H (CH ₃)	Estiramento simétrico
4	2850 ^{b,c}	-CH ₂	Estiramento simétrico
5	1650 ^{a,b,c}	-C=C cis alceno e/ou C=N amida	Estiramento
6	1457 ^{a,c}	C-CH ₂	Tesoura
7	1376 ^{a,c}	C-CH ₃	Dobra simétrica
8	1156 ^a	No plano C-H (benzeno)	Dobra

Picos significativos para a separação das diferentes regiões do ninho analisadas: ^a para a espécie *Polistes ferreri*; ^b para *Polistes lanio*; e ^c para *Polistes versicolor*.

Tabela 2. Medidas de dissimilaridade entre as seis regiões amostradas na espécie *Polistes ferreri*, obtidas a partir da distância ao quadrado de Mahalanobis (D²).

Regiões	Mediana	Inferior	Lateral	Mecônio	Pedúnculo	Superior
Mediana	-					
Inferior	9,23	-				
Lateral	9,68	5,20	-			
Mecônio	18,83	17,80	27,03	-		
Pedúnculo	21,94	7,39	10,11	23,91	-	
Superior	1,06*	5,58	6,83	16,32	15,66	-

* Indica os grupos que não diferiram entre si (p >0,05).

Tabela 3. Medidas de dissimilaridade entre as seis regiões amostradas na espécie *Polistes lanio*, obtidas a partir da distância ao quadrado de Mahalanobis (D^2).

Regiões	Mediana	Inferior	Lateral	Mecônio	Pedúnculo	Superior
Mediana	-					
Inferior	3,72	-				
Lateral	5,56	1,99*	-			
Mecônio	25,72	16,29	21,02	-		
Pedúnculo	21,04	9,83	13,78	23,74	-	
Superior	1,17*	2,87	4,19	21,73	18,35	-

* Indica os grupos que não diferiram entre si ($p > 0,05$).

Tabela 4. Medidas de dissimilaridade entre as seis regiões amostradas na espécie *Polistes versicolor*, obtidas a partir da distância ao quadrado de Mahalanobis (D^2).

Regiões	Mediana	Inferior	Lateral	Mecônio	Pedúnculo	Superior
Mediana	-					
Inferior	2.18	-				
Lateral	1.14*	2.26	-			
Mecônio	13.37	11.11	17.08	-		
Pedúnculo	16.37	14.23	16.73	16.48	-	
Superior	0.65*	2.92	1.32*	13.39	15.24	-

* Indica os grupos que não diferiram entre si ($p > 0,05$).

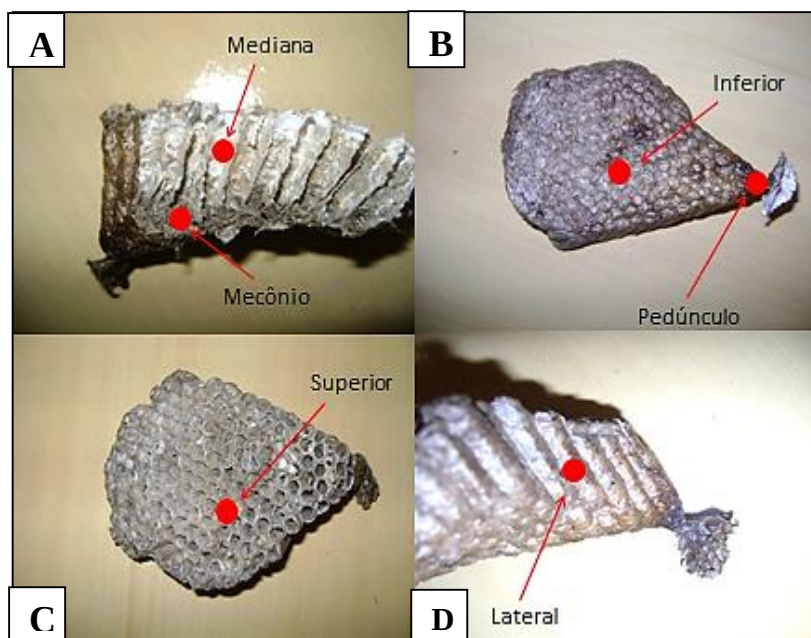


Figura 1. Representação esquemática das amostras das diferentes regiões dos ninhos extraídas para análise da composição química. A) Região mediana e do mecônio; B) Região inferior e do pedúnculo; C) Região superior; D) Região lateral.

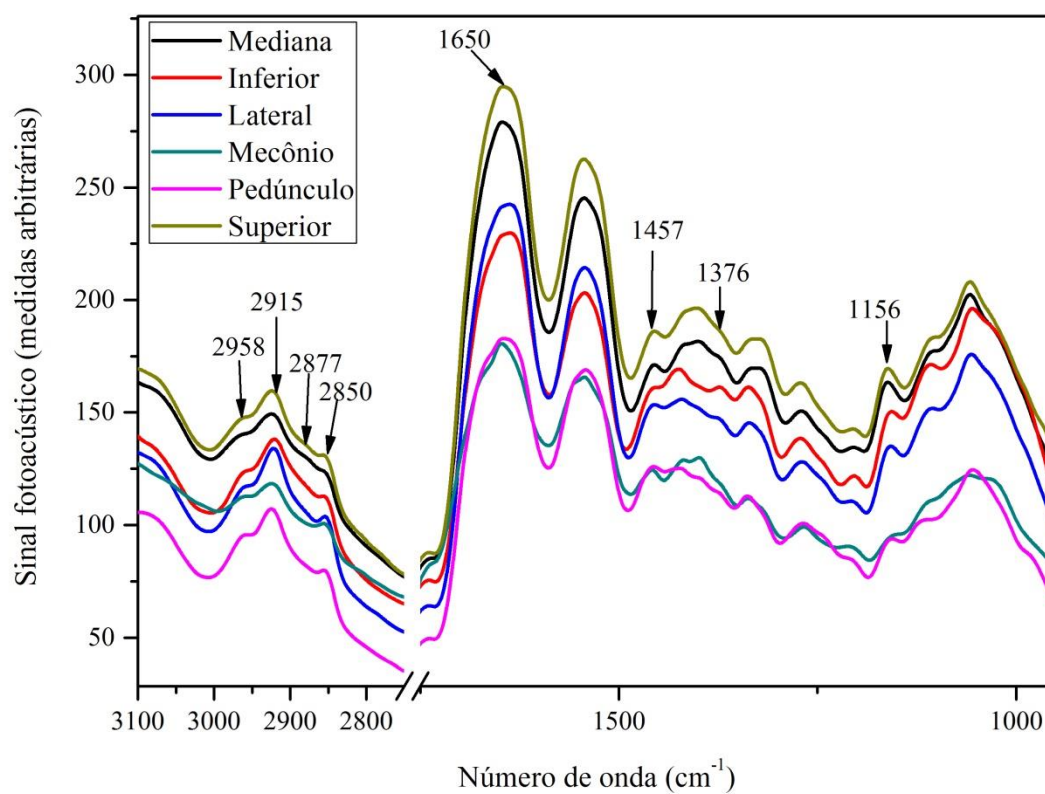


Figura 02. Espectros de absorção no infravermelho médio da composição química de diferentes regiões nos ninhos de *Polistes ferreri* com indicação dos picos utilizados para análise estatística.

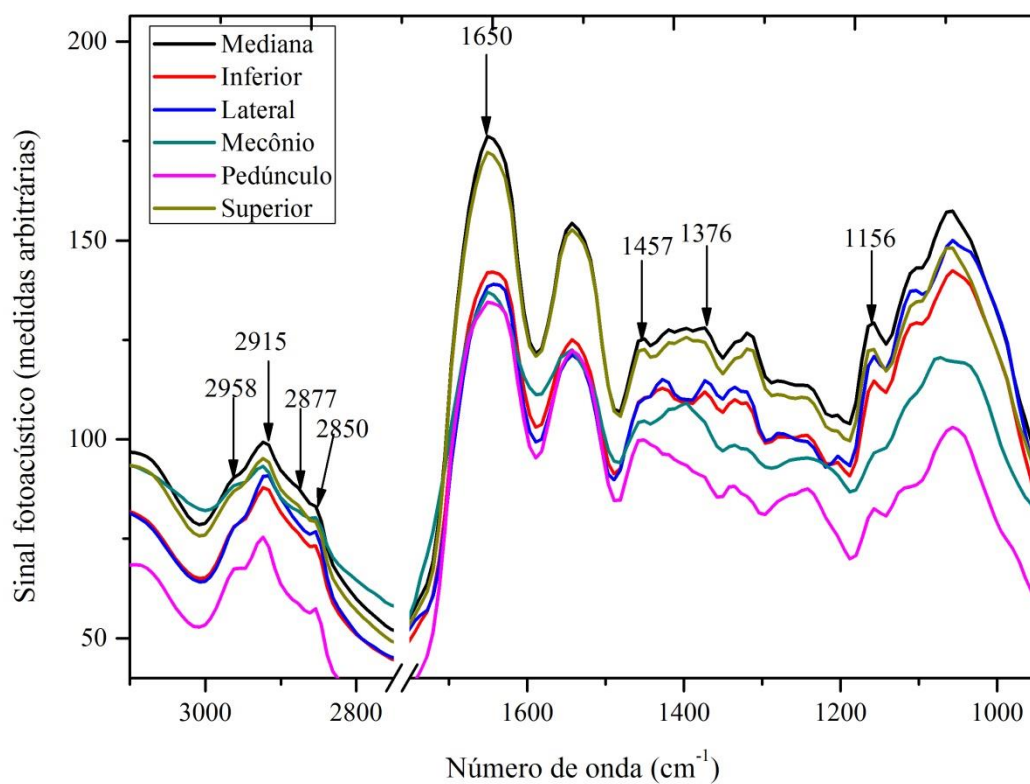


Figura 03. Espectros de absorção no infravermelho médio da composição química de diferentes regiões nos ninhos de *Polistes lanio* com indicação dos picos utilizados para análise estatística.

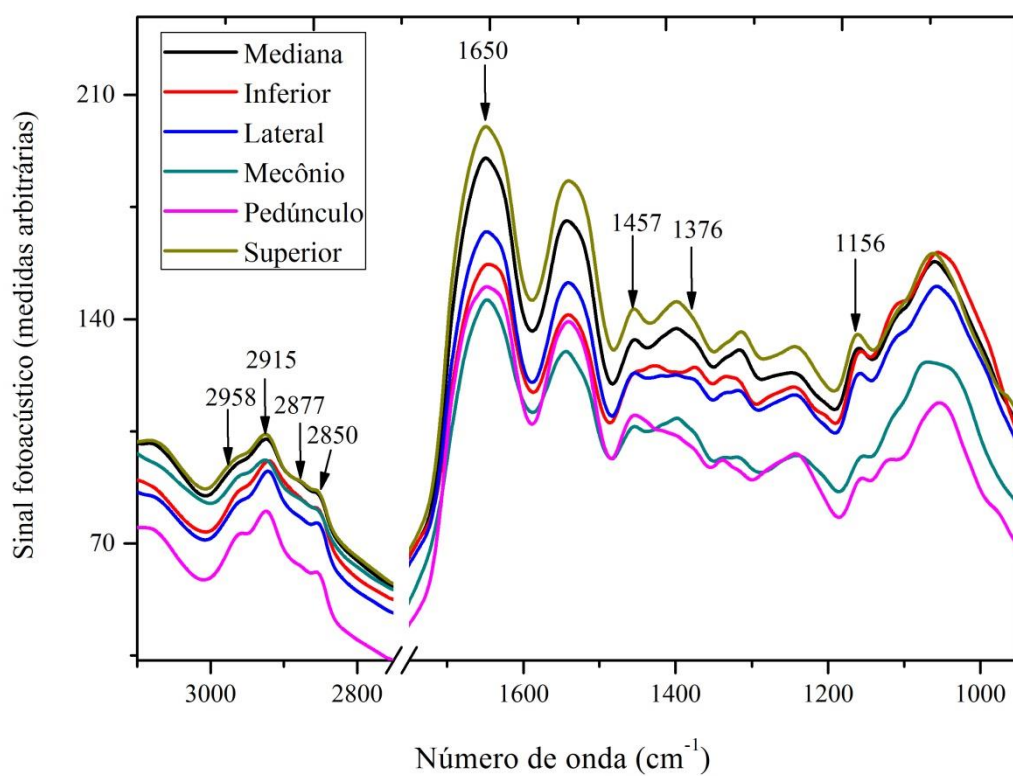


Figura 04. Espectros de absorção no infravermelho médio da composição química de diferentes regiões nos ninhos de *Polistes versicolor* com indicação dos picos utilizados para análise estatística.

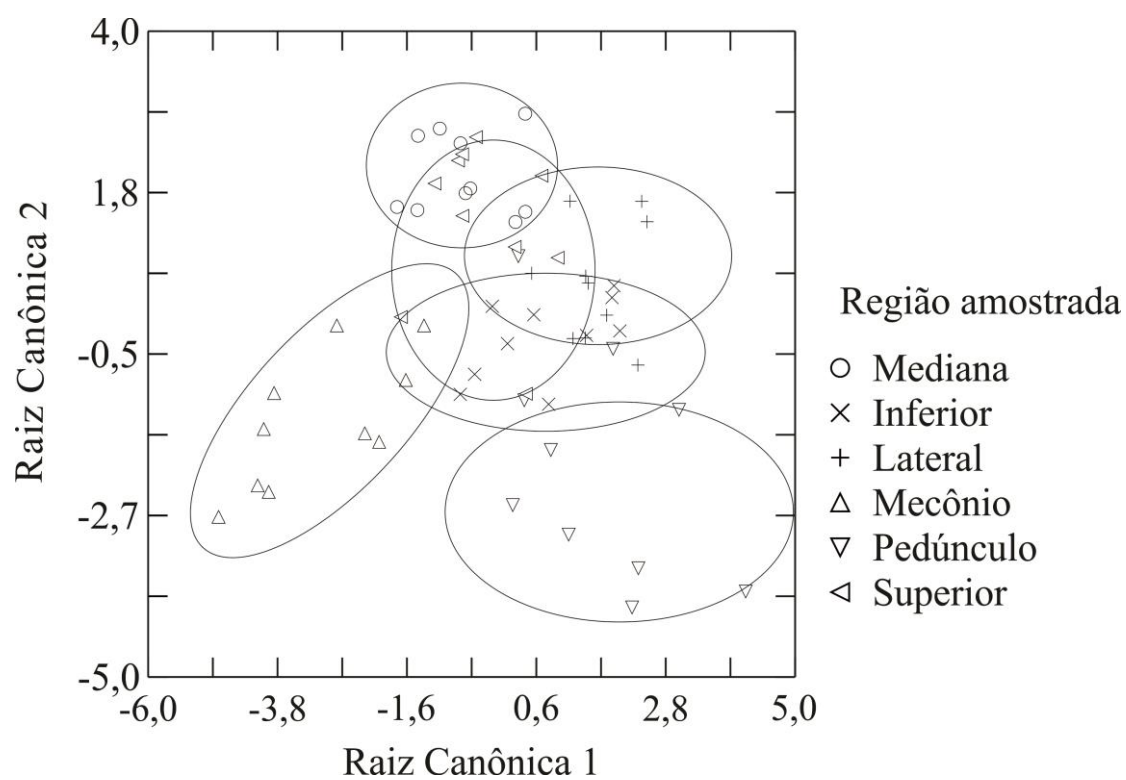


Figura 05. Diagrama de dispersão dos resultados da análise discriminante mostrando as duas raízes canônicas de diferenciação entre o perfil químico de diferentes regiões nos ninhos de *Polistes ferreri*.

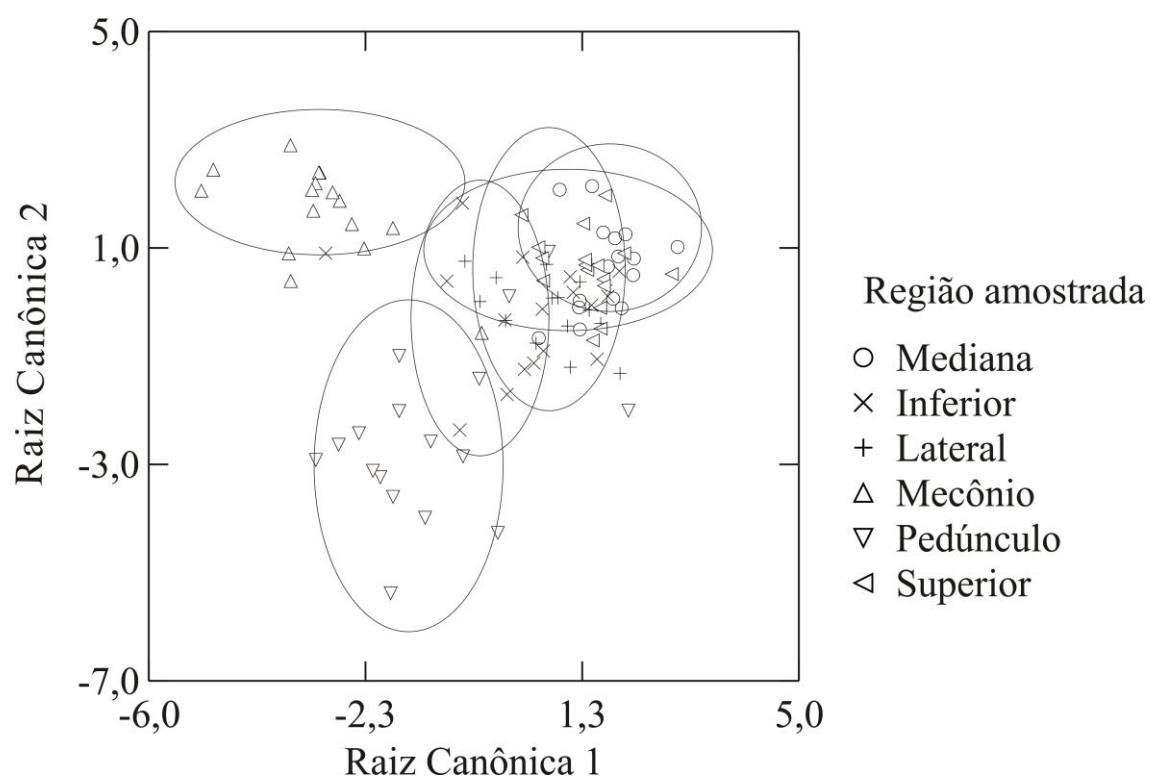


Figura 06. Diagrama de dispersão dos resultados da análise discriminante mostrando as duas raízes canônicas de diferenciação entre o perfil químico de diferentes regiões nos ninhos de *Polistes lanio*.

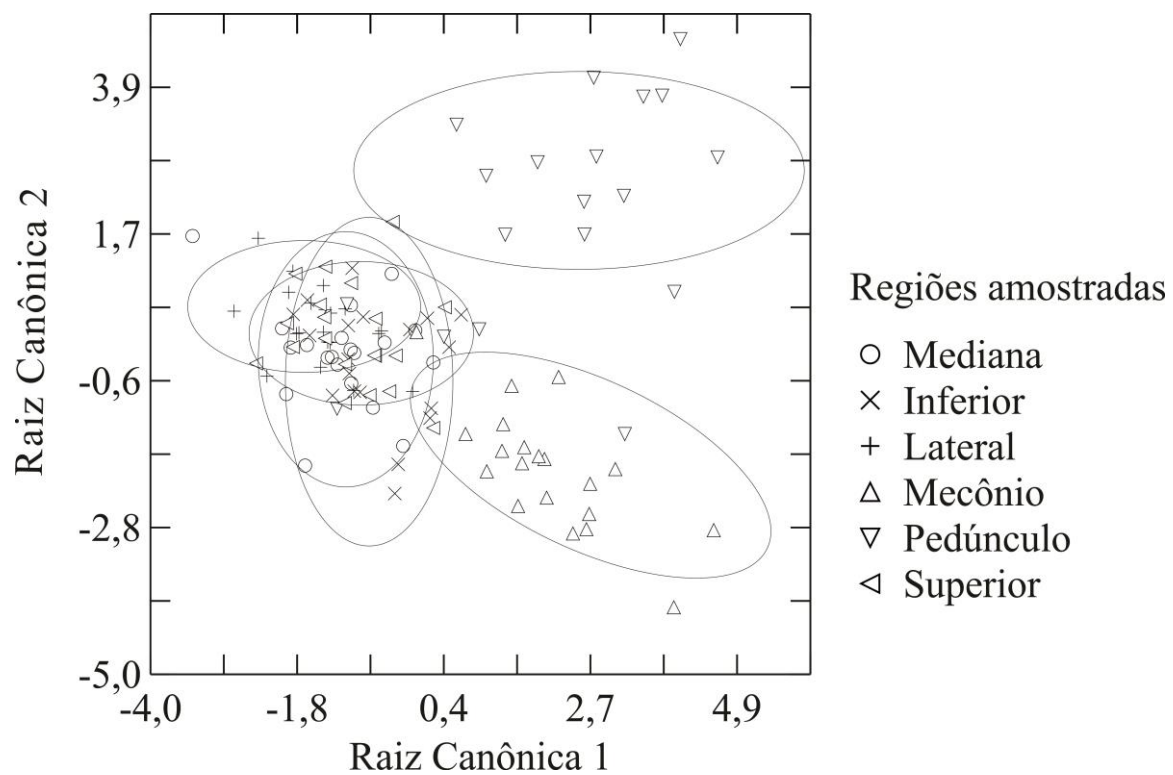


Figura 07. Diagrama de dispersão dos resultados da análise discriminante mostrando as duas raízes canônicas de diferenciação entre o perfil químico de diferentes regiões nos ninhos de *Polistes versicolor*.

Referências Bibliográficas

Antonialli-Junior WF, Lima SM, Andrade LH, Suarez YR (2007) Comparative study of the cuticular hydrocarbon in queens, workers and males of *Ectatomma vizottoi* (Hymenoptera, Formicidae) by Fourier transform-infrared photoacoustic spectroscopy. Genet Mol Res 6: 492-499

Antonialli-Junior WF, Suarez YR, Izida T, Andrade LH (2008) Intra- and interspecific variation of cuticular hydrocarbon composition in two *Ectatomma* species (Hymenoptera: Formicidae) based on Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. Genet Mol Res 7: 559-566

Bagnères AG, Morgan ED (1991) The postpharyngeal gland and the cuticle of Formicidae contain the same characteristic hydrocarbons. Experientia 47: 106-111

Billen J, Morgan ED (1998) Pheromone communication in social insects - sources and secretions, p. 3-33. In Vander Meer RK, Breed MD, Winston ML, Espelie KE (eds.). Pheromone communication in social Insects: ants, wasps, bees, and térmites. Oxford, Westview Press Boulder, 388p

Billen J (2006) Morphology and ultrastructure of the Dufour gland in workers of social wasps (Hymenoptera, Vespidae). Arthropod Struct Dev 35: 77-84

Blomquist GJ, Tillman JA, Mpuru S, Seybold SJ (1998) The Cuticle and Cuticular Hydrocarbons of Insects: Structure, Function, and Biochemistry, p. 35-54. In Vander Meer RK, Breed MD, Winston ML, Espelie KE (eds.). Pheromone communication in social Insects: ants, wasps, bees, and térmites. Oxford, Westview Press Boulder, 388p

Butignol CA (1992) Observações sobre a bionomia da vespa predadora *Polistes versicolor* (Olivier, 1791) (Hymenoptera, Vespidae) em Florianópolis/SC. An Soc Entomol Bras 19(2): 201-206

Costanzi E, Bagnères AG, Lorenzi MC (2013) Changes in the hydrocarbon proportions of colony odor and their consequences on nestmate recognition in social wasps. *Plos One* 8(5): 65107

Cruz-Landim C, Abdalla FC (2002) Glândulas exócrinas das abelhas. Ribeirão Preto, editora Funpec, 194p

Dani FR, Fratini S, Turillazzi S (1996) Behavioural evidence for the involvement of Dufour's gland secretion in nestmate recognition in the social wasp *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae). *Behav Ecol Sociobiol* 38: 311-319

Dani FR, Jones GR, Morgan DE, Turillazzi S. (2003) Reevaluation of the chemical secretion of the sternal glands of *Polistes* social wasps (Hymenoptera Vespidae) *Ethol Ecol Evol* 15: 73-82

Dapporto L, Theodora P, Spacchini C, Turillazzi S (2004a) Rank and epicuticular hydrocarbons in different populations of the paper wasp *Polistes dominulus* (Christ) (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Soc* 51: 279-286

Dapporto L, Wolf H, Strumia F, (2007a) Recent geography determines the distribution of some flying Hymenoptera in the Tuscan Archipelago. *J Zool* 272: 37-44

Dapporto L, Dani FR, Turillazzi S (2007b) Social dominance molds cuticular and egg chemical blends in a paper wasp. *Curr Biol* 17: 504-505

Dietermann V, Peeters C, Liebig J, Thivet V (1992) Cuticular hydrocarbons mediate discrimination of reproductives and nonreproductives in the ant *Myrmecia gulosa*. *Proc Natl Acad Sci* 100: 10341-10346.

Espelie KE, Hermann HR (1990) Surface lipids of the social wasp *Polistes annularis* (L.) and its nest and nest pedicel. *J chem Ecol* 16: 1841-1852

Espelie KE, Wenzel JW, Chang G (1990) Surface lipids of social wasp *Polistes metricus* Say and its nest and nest pedicel and their relation to nestmate recognition. *J Chem Ecol* 16: 2229-2241

Gamboa GJ, Reeve HK, Ferguson I, Wacker TL (1986b) Nestmate recognition in social wasps: The origin and acquisition of recognition odours. *Anim Behav* 34: 685-69

Gamboa GJ (1996) Kin Recognition in Social Wasps, p.161-177. In Turillazzi S, West-Eberhard MJ (eds.). *Natural History and Evolution of Paper-Wasps*, Oxford, Oxford University Press, 414p

Gamboa GJ, Grudzier TA, Espelie KA, Bura EA (1996) Kin recognition pheromones in social wasps: Combining chemical and behavioural evidence. *Anim Behav* 51: 625-629

Giannotti E (1999) Social organization of the eusocial wasp *Mischocyttarus cerberus styx* (Hymenoptera, Vespidae). *Sociobiology* 33(3): 325-338

Gobbi N, Zucchi R (1985) On the ecology of *Polistes versicolor versicolor* (Olivier) in southern Brazil (Hymenoptera, Vespidae, Polistini). II. Colonial productivity. *Naturalia* 10: 21-25

Hunt JH, Carpenter JM (2004) Intraspecific nest form variation in some Neotropical swarm-founding wasps of the genus *Parachartergus* (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini). *J Kans Entomol Soc* 77: 448-456

Jeanne RL (1970) Chemical Defense of Brood by a Social Wasp. *Science* 168(3938): 1465-1466

Jeanne RL (1972) The social Biology of Neotropical wasp *Mischocyttarus drewsenii*. *Bull Mus Comp Zool* 144(3): 63-150

Jeanne RL (1975) The adaptiveness of social wasp nest architecture. *Q Rev Biol* 50: 267-87

Klahn JE (1979) Philopatric and nonphilopatric foundress associations in the social wasp *Polistes fuscatus*. *Behav Ecol Sociobiol*, 5: 417-424.

Kojima J (1983) Defense of the pre-emergence colony against ants by means of a chemical barrier in *Ropalidia fasciata* (Hymenoptera, Vespidae). *Japan J Ecol* 33: 213-223.

Layton JM, Camann MA, Espelie KE (1994) Cuticular lipids profiles of queens, workers and males of social wasp *Polistes metricus* say are colony-specific. J Chem Ecol 20(9): 2307-2321

Layton JM, Espelie KE (1995) Effects of nest paper hydrocarbons on nest and nestmate recognition in colonies of *Polistes metricus* Say. J Insect Behav 8: 103-113

Lenoir A, Fresneau D, Errard C, Hefetz A (1999) The individuality and the colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept, p.219-237. In Detrain C, Deneubourg JL, Pasteels J (eds.) Information processing in social insects. Verlag, Basel Birkhäuser, 415p

Lockey KH (1988) Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. Comp Biochem Physiol 89: 595-645

London KB & Jeanne RL (2000) The interaction between mode of colony founding, nest architecture and ant defense in polistine wasps. Ethol Ecol Evol 12: 13-25

Lorenzi MC, Bagnères AG, Clement JL, Turillazzi S (1997) *Polistes biglumis bimaculatus* epicuticular hydrocarbons and nestmate recognition (Hymenoptera, Vespidae). Insectes Soc 44: 123-138

Mitra A, Gadagkar R (2014) The Dufour's Gland and the cuticle in the social wasp *Ropalidia marginata* contain the same hydrocarbons in similar proportions. J Insect Sci 14: 9

Neves EF, Andrade LHC, Suárez YR, Lima SM, Antonialli-Junior WF (2012) Age-related changes in the surface pheromones of the wasp *Mischocyttarus consimilis* (Hymenoptera: Vespidae). Genet Mol Res 11(3):1891-1898.

Neves EF, Montagna TS, Andrade LHC, Suárez YR, Lima SM, Antonialli-Junior WF (2013) Social parasitism and dynamics of cuticular hydrocarbons in paper wasps of the genus *Mischocyttarus*. J Kans Entomol Soc 86(1): 69-77

Panek LM, Gamboa G, Espelie KE (2001) The effect of a wasp's age on its cuticular hydrocarbon profile and its tolerance by nestmate and non-nestmate conspecifics (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae). *Ethology* 107: 55-63

Quinn GP, Keough MJ (2002) Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. 553p

Ratnieks FLW (1991) Facultative sex allocation biasing by workers in social Hymenoptera. *Evolution* 24: 281-292

Richards OW, Richards MJ (1951) Observations on the social wasps of South America (Hymenoptera, Vespidae). *Trans R Entomol Soc Lond* 102: 1-170

Rosencwaig A (1980) Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy. New York, Wiley, 309p

Signorotti L, Cappa F, d'Ettorre P, Cervo R (2014) Novel Insights into the Ontogeny of Nestmate Recognition in *Polistes* Social Wasps. *Plos One* 9(5): e97024

Silverstein RM, Webster FX (2000) Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 6ª ed. Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos, 530p

Singer TL, Espelie KE (1997) Exposure to nest paper hydrocarbons is important for nest recognition by a social wasp, *Polistes metricus* Say (Hymenoptera, Vespidae). *Insect Soc* 44: 245-254.

Sivakesava S, Bober J, Irudayaraj J, Demirci A (2004) Simultaneous determination of multiple components in nisin fermentation using FTIR Spectroscopy. *Agricultural Engineering International: the CIGR Journal of Scientific Research and Development*. Manuscript 3(8): 16p

Skoog, DA, Holler FJ, Nieman TA (2002) Princípios de Análise Instrumental. 5ª ed. Bookman 836p

Smith B (1999) Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach. New York: CRC Press, 200p

Soares ERP, Torres VO, Antonialli-Junior WF (2014) Reproductive Status of Females in the Eusocial Wasp *Polistes ferreri* Saussure (Hymenoptera: Vespidae). Neotrop Entomol 43: 500-508

Soroker V, Vienne C, Nowbahari E, Hefetz A (1994) The post pharyngeal glands as a 'Gestalt' organ for nestmate recognition in the ant *Cataglyphis niger*. Denkschr Schweiz Akad Natwiss 81: 510-513

Sumana A, Liebert AE, Berry AS, Switz GT, Orians CM, Starks PT (2005) Nest hydrocarbons as cues for philopatry in a paper wasp. Ethology 111: 469-477

Tannure-Nascimento, IC, Nascimento FS, Turatti IC, Lopes, NP, Trigo JR, Zucchi R (2007) Colony membership is reflected by variations in cuticular hydrocarbon profile in a Neotropical paper wasp, *Polistes satan* (Hymenoptera, Vespidae). Genet Mol Res 6: 290-296

Torres, VO, Sguarizi-Antonio, D, Lima, SM, Andrade, LHC, Antonialli-Junior, WF (2014) Reproductive status of the social wasp *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae). Sociobiology 61(2): 218-22.

Turillazzi S, Ugolini A (1978) Nest defense in European *Polistes* (Hymenoptera: Vespidae). Monitore Zoo Ital 12: 72

Turillazzi, S, Ugolini A (1979) Rubbing behaviour in some European *Polistes* (Hymenoptera: Vespidae). Monitore Zool Ital 13: 129-142

West-Eberhard MJ (1969) The Social Biology of Polistine Wasps. Michigan, Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan, 140: 101p

Capítulo 2 – Variações inter e intraespecíficas do perfil químico de ninhos em espécies de vespas sociais do gênero *Polistes* por meio da técnica de FTIR-PAS

RF Torres¹ & WF Antonialli-Junior^{1,2}

¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, Brasil

²Laboratório de Ecologia Comportamental, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados-MS, Brasil

Autor correspondente: RF Torres. Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade. Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Dourados-MS, Brasil. 79804-970. romario_torresmn@hotmail.com.

Resumo. Vespas sociais investem na construção de uma estrutura física que lhes fornecem microambiente adequado, proteção e controle homeostático da colônia, o ninho. Além disso, nas últimas décadas vários estudos vêm demonstrando a importância do perfil químico do ninho para compor a assinatura colonial. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi analisar as diferenças inter e intraespecíficas em vespas sociais do gênero *Polistes*, pelo perfil químico do ninho. Foram coletados ninhos de *Polistes lanio* (Fabricius) e *Polistes versicolor* (Oliver) em dois ambientes distintos, cuja categorização foi baseada na estrutura da vegetação e no tipo e intensidade de atividade humana. Os compostos químicos dos ninhos foram avaliados pela técnica de Espectroscopia de absorção no Infravermelho Médio por Detecção Fotoacústica (FTIR-PAS). A MANOVA demonstra que há diferenças no perfil químico do ninho entre as 2 espécies e também entre o tipo de ambiente em que as colônias estão nidificadas. Além disso, os dados apontam maior correlação entre o perfil

químico pedúnculo e os esternitos das fêmeas, e não entre as regiões do favo, corroborando com trabalhos anteriores. Dessa forma, pode-se concluir que o perfil químico do ninho pode servir como ferramenta taxonômica para avaliar diferenças inter e intraespecíficas em vespas sociais.

Palavras-chave: Assinatura colonial, compostos químicos, Polistinae

Absctrat. Social wasps invest in building of a physical structure that provide appropriate microenvironment, protection and homeostatic control of the colony, the nest. Moreover, in recent decades several studies have demonstrated the importance of the chemical profile of the nest to compose the colonial signature. Thus, the aim of this study was to analyze the inter- and intraspecific differences in social wasps of the *Polistes* gender, by the chemical nest profile. Were collected nests of *Polistes lanio* (Fabricius) and *Polistes versicolor* (Oliver) in two different environments, whose categorization was based on vegetation structure and the type and intensity of human activity. The chemical compounds of the nests was evaluated by Fourier Transform Infrared Photoacoustic Spectroscopy (FTIR-PAS). The MANOVA shows that there are differences in the chemical profile of the nest between the two species and also between the type of environment in which the colonies are nesting. In addition, the data show a stronger correlation between chemical peduncle profile and sternites of females, and not between regions of the comb, confirming previous works. Thus, it can be concluded that the chemical profile of the nest may serve as a taxonomic tool to assess inter- and intraspecific differences in social wasps.

Key Words: colonial signatura, chemical compounds, Polistinae.

Introdução

As vespas sociais estão agrupadas em três subfamílias (Vespinae, Stenogastrinae e Polistinae), contudo, apenas Polistinae ocorre no Brasil (Carpenter & Marques 2001). A subfamília Polistinae é a mais diversa dentre as vespas sociais, formada por 940 espécies, das quais 302 espécies estão registradas no Brasil (Carpenter & Marques 2001). Nesta subfamília destaca-se o gênero *Polistes*, com 206 espécies descritas e distribuição cosmopolita (Reeve 1991), sendo considerado “gênero-chave” para a compreensão da evolução de vespas sociais (Evans 1958, Evans & West-Eberhard 1970). Estas vespas sociais podem ocupar muitos tipos de habitats, sobretudo associadas a construções humanas (Lima *et al* 2000, Prezoto *et al* 2007), demonstrando, portanto, alto grau de sinantropia (Fowler 1983).

O comportamento de nidificação dos insetos sociais é um marco evolutivo nesse grupo (Jeanne 1975), uma vez que todos os indivíduos da colônia dividem uma mesma estrutura física denominada de ninho (McGlynn 2012). Estes insetos investem todo o potencial reprodutivo da colônia nesta estrutura e para isso necessitaram desenvolver mecanismos de defesa contra potenciais predadores (Judd 1998), uma vez que a predação, como em outros animais, é uma das forças seletivas que os insetos sociais tiveram que enfrentar ao longo de sua história evolutiva.

Proporcionar um microambiente protegido para os imaturos é uma das funções do ninho (Starr 1991), o qual, além de fornecer proteção e local para as interações, promove controle homeostático que é fundamental para o desenvolvimento das formas imaturas (Jones & Oldroyd 2007).

Em geral, vespas sociais utilizam principalmente material vegetal para construção de seus ninhos (Wenzel 1998, Carpenter & Marques 2001). Este material vegetal é triturado e misturado com água e secreção salivar o que resulta num produto semelhante ao papel, sendo, dessa forma, popularmente conhecidas como “vespas papel” (Jeanne 1975, Wenzel

1998). Estes ninhos são formados por um único favo que é preso ao substrato por um pedúnculo, central ou periférico e sem a presença de um invólucro protetor (Richards 1978), sendo assim, denominado estelocítaro gimnódomo (Carpenter & Marques 2001), sendo que a ausência de invólucro protetor é uma condição plesiomórfica encontrada em espécies do gênero *Mischocyttarus*, *Polistes*, *Agelaia* e *Apoica*.

Outra importante característica dos ninhos de vespas sociais que vem sendo investigada por trabalhos como os de Espelie & Hermann (1990), Espelie *et al* (1990) e Singer & Espelie (1997) é a importância do perfil químico destas estruturas, sobretudo o pedúnculo, para compor o odor característico da colônia. Segundo estes estudos os compostos químicos dos ninhos, sobretudo os hidrocarbonetos são semelhantes aos da cutícula dos indivíduos adultos e imaturos em *Polistes annularis* (Linnaeus) e *Polistes metricus* (Say).

A importância dos hidrocarbonetos cuticulares (CHCs) para o processo de reconhecimento intraespecífico nestes insetos teve destaque no cenário científico a partir de 1980 (Howard *et al* 1982, Bonavita-Cougourdan *et al* 1987, Breed *et al* 1988a,b), quando iniciou-se às investigações que os posicionaram como peças fundamentais na comunicação feromonal atuando como uma assinatura química efetiva na identificação de co-específicos (Provost *et al* 2008).

De fato, vários estudos têm demonstrado a importância dos hidrocarbonetos cuticulares (HCs) para avaliar diferenças intraespecíficas ente populações (Dapporto *et al* 2004a), colônias (Layton *et al* 1994, Tannure-Nascimento *et al* 2007, Antonialli-Junior *et al* 2008), sexo (Cotoneschi *et al* 2009), status reprodutivo (Sledge *et al* 2001 Soares *et al* 2014, Torres *et al* 2014a), fertilidade (Monnin 2006, Izzo *et al* 2010, Soares *et al*. 2014) e idade (Neves *et al* 2012).

Além disso, sabe-se que estes compostos presentes na cutícula são formados tanto por componentes genéticos, quanto por ambientais (Ratnieks 1991, Page *et al* 1991, Arnold

et al 1996, Gamboa *et al* 1996, Blomquist & Bagnères 2010, Kather & Martin 2012). E, dentre os componentes ambientais, aquele que contribui de forma relevante é a dieta (Le Moli *et al* 1992, Liang & Silverman 2000, Buczkowski *et al* 2005).

Contudo, parte destes compostos são adquiridos após a emergência do adulto, por meio das interações com as próprias companheiras de ninho (Pfennig *et al* 1983, Gamboa *et al* 1986a, Panek *et al* 2001, Lorenzi *et al* 2004, e Neves *et al* 2012), mas também com o próprio substrato do ninho (Espelie & Hermann 1990, Espelie *et al* 1990, Singer & Espelie 1997, Sumana *et al* 2005). Além disso, as secreções glandulares (pós-faringeal, mandibulares ou da glândula de Dufour) podem contribuir para a composição do perfil químico dos indivíduos (Bagnères & Morgan 1991, Soroker *et al* 1994, Dani *et al* 1996, Mitra & Gadagkar 2014) e, consequentemente ter papel importante nos mecanismos de reconhecimento.

De acordo com Sumana *et al* (2005) existe uma relação entre os compostos químicos do substrato do ninho com os adultos em colônias de *Polistes dominula* (Christ), uma vez que as fêmeas são capazes de reconhecer seu sítio natal mesmo após um período de hibernação (Sumana *et al* 2005). Além disso, operárias recém-emergidas do gênero *Polistes* precisam ficar expostas ao seu ninho natal por um certo período para adquirir o odor característico da colônia, uma vez que podem absorver componentes do próprio material do ninho, o que contribui para a assinatura química da colônia (Gamboa *et al* 1996).

Lorenzi *et al* (2011) observaram que colônias de *Polistes biglumis* (Linnaeus) usurpadas por co-específicas possuem marcação feita por suplementação de hidrocarbonetos ramificados dos ninhos, o que torna o perfil químico do ninho mais semelhante ao das usurpadoras. Portanto, é inegável a importância que os hidrocarbonetos do ninho têm para compor a assinatura química cuticular da colônia.

Para análise de compostos químicos envolvidos no reconhecimento de co-específicos as técnicas cromatográficas vêm sendo empregadas para qualificar e quantificar estes compostos químicos e avaliar as diferenças intra e interespecíficas (Dietermann *et al* 1992, Layton *et al* 1994, Dapporto *et al* 2004a, Tannure-Nascimento *et al* 2007, Cotoneschi *et al* 2009, Izzo *et al* 2010). Contudo, mais recentemente os trabalhos de Antonialli-Junior *et al* (2007, 2008), Neves *et al* (2012, 2013), Torres *et al* (2014a) e Soares *et al* (2014) têm utilizado a técnica de Espectroscopia de absorção no Infravermelho Médio por Detecção Fotoacústica (FTIR-PAS, “Fourier Transform–Infrared Photoacoustic Spectroscopy”) para avaliar as relações entre espécies, colônias, status reprodutivo e idade por meio do perfil químico dos adultos de vespas sociais e formigas. Esta técnica possui inúmeras vantagens, dentre estas: aplicação em materiais biológicos frágeis, em amostras com dimensões reduzidas e, devido à intensidade da radiação ser baixa não há destruição da amostra (Greene *et al* 1992).

Uma vez que a literatura ressalta a importância da composição química do ninho para compor os sinais químicos que mantém a coesão das colônias e, por outro lado, o fato de ainda haver poucos estudos com este tema em espécies de vespas sociais tropicais, o objetivo deste estudo foi avaliar a variação inter e intraespecíficas dos compostos químicos dos ninhos de duas espécies de vespas sociais do gênero *Polistes*, pela técnica de FTIR-PAS.

Material e Métodos

Coleta e preparação do material

Colônias e seus ninhos das espécies *P. versicolor* e *P. lanio* foram coletadas com o auxílio de um recipiente plástico contendo algodão umedecido com éter que em seguida foi retirado para evitar degradação/decomposição de compostos químicos dos indivíduos e dos ninhos. Após a coleta, os ninhos foram acondicionados em postes plásticos transparentes e

preservados em freezer até o momento preparação das amostras para leitura, enquanto os adultos foram armazenados individualmente em eppendorf.

A dissecação do ninho consistiu na retirada das amostras com o auxílio de pinça, as quais foram em seguida acondicionadas em eppendorfs e novamente conservadas em freezer até o momento da leitura. Foram retiradas amostras do pedúnculo de $\pm 0,5$ cm de comprimento e diâmetro variável, de acordo com a sua espessura. Esta região foi selecionada porque segundo Espelie & Hermann (1990) e Espelie *et al.* (1990) é a região do ninho que possui maior similaridade com o perfil de hidrocarbonetos dos indivíduos adultos. Entretanto, para confirmar essa similaridade também foram analisadas amostras de 4 regiões da células do favo (inferior, lateral, mediana e superior), das quais foram extraídas amostras de $\pm 0,5$ cm².

Como uma das vantagens da técnica de FTIR-PAS é poder avaliar amostras pequenas e como o objetivo do estudo não é descrever os compostos, a leitura do perfil químico dos indivíduos adultos foi realizada a partir do 5º esternito gastral das fêmeas. Esta porção do gáster foi selecionada porque segundo Cuvillier-Hot *et al* (2001) a maior concentração dos hidrocarbonetos está no gáster.

Da espécie *P. versicolor* foram coletados 10 ninhos de colônias nidificadas em ambiente categorizado como rural e 10 ninhos de colônias nidificadas em um ambiente categorizado como urbano. Da espécie *P. lanio* foram coletados 11 ninhos de colônias nidificadas em ambiente rural e 5 de ambiente urbano. Para análise dos adultos foram utilizados 30 esternitos de fêmeas de cada espécie, sendo 15 amostras de ambiente urbano e 15 de ambiente rural.

Categorização das áreas de coleta

As áreas de coleta foram categorizadas em rural e urbana, seguindo a descrição já proposta por Torres *et al* (2014b):

A área definida como ambiente rural foi caracterizada como de pouca atividade humana e poucas edificações, predominando fragmentos florestais, associados ou não a rios e riachos, além de pastagens e plantações agrícolas.

A área definida como ambiente urbano foi caracterizada por intensa atividade humana, apresentando inúmeras edificações, de madeira ou alvenaria, em geral, habitadas. No entorno, predominava áreas de calçamento e vegetação, basicamente de gramíneas.

Espectroscopia de absorção no Infravermelho Médio por Detecção Fotoacústica (FTIR-PAS)

As amostras dos pedúnculos e dos esternitos das fêmeas adultas foram levadas ao espectrofotômetro Termo-Nicolet Nexus 670, acoplado a um detector fotoacústico (MTEC-300) para realização da leitura por FTIR-PAS. A técnica FTIR-PAS faz a leitura da radiação absorvida pela amostra na região espectral do infravermelho médio, que compreende a faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} (Silverstein & Webster 2000, Skoog *et al* 2002), área que abrange a região conhecida como impressão digital (1500 e 400 cm^{-1}). Esta região é sensível às vibrações de grupos químicos moleculares, o que possibilita identificar e distinguir radicais moleculares e os tipos de ligações químicas envolvidas nas respectivas amostras (Smith 1999).

Para a leitura das amostras o espectrofotômetro foi purificado com ar seco para eliminar vapor de água e CO_2 do interferômetro e a câmara fotoacústica acoplada com microfone foi purificada com gás Hélio para aumentar a sensibilidade do sistema. O espectro final de cada amostra foi obtido pela média de 64 espectros com resolução de 8 cm^{-1} .

A partir da análise dos espectros foram selecionados 8 picos correspondentes aos grupos funcionais compostos por átomos de carbono e hidrogênio, provavelmente correspondendo às bandas de hidrocarbonetos e também por um possível grupo amida que sempre está presente nos espectros. Estes picos também já foram utilizados em trabalhos

anteriores para avaliar o perfil químico cuticular de adultos de formigas e vespas sociais por esta técnica (Antonialli-Junior *et al* 2007, 2008, Neves *et al* 2012, 2013, Torres *et al* 2014a, Soares *et al* 2014).

Análises estatísticas

Para avaliar as diferenças inter e intraespecíficas das duas espécies foram utilizadas as intensidades dos picos selecionados previamente nas análises estatísticas. As amostras foram comparadas por análise de variância multivariada (MANOVA), na qual o efeito da variável foi calculado pelo valor do Wilks' Lambda e de p, sendo o efeito considerado significativo quando o valor de p obtido foi $< 0,05$.

Para representar graficamente o agrupamento das amostras foi realizada uma análise de componentes principais (PCA), a qual foi aplicada ao conjunto dos oito picos selecionados nos perfis químicos dos ninhos.

Já para avaliar a relação entre o perfil químico do pedúnculo, dos estenitos e das células do favo foram elaboradas matrizes de similaridade das espécies de acordo com o ambiente de coleta utilizando a distância euclidiana e o método de ligação UPGMA para construção de um dendograma. Para avaliar se o dendograma refletia a matriz de similaridade foi utilizado o coeficiente de correlação cofenética, sendo definido o valor mínimo de 0,75 como medida de qualidade do ajuste (MacGarigal *et al* 2000). Em seguida, foram realizados testes de mantel para correlacionar as matrizes por meio de distância euclidiana. Sua significância foi definida através de simulação de Monte Carlo (999 permutações) e as análises foram realizadas no programa R.

Resultados

A partir da inspeção visual dos espectros médios do pedúnculo dos ninhos não é possível identificar diferenças visuais nítidas entre as espécies (Fig. 01). Contudo, a análise

de variância multivariada (MANOVA) indicou que há diferenças significativas entre os compostos químicos dos ninhos das 2 espécies (Wilks' Lambda= 0,483; F= 3,481; p=0,007), sobretudo de acordo com o ambiente em que as colônias estavam nidificadas (Wilks' Lambda= 0,351; F=6,006; p<0,001) (Tabela 01 e Fig. 02).

Além disso, a análise de componentes principais (PCA) mostra que há pouca sobreposição das amostras (Fig. 02), sendo que o primeiro eixo foi positivamente relacionado com os picos e explicou 70,5% da variância; enquanto o segundo eixo da PCA explicou 24,5% do agrupamento das amostras (Fig. 02).

O pico 2915 cm^{-1} foi importante para distinguir os perfis químicos das duas espécies, o qual corresponde ao grupo funcional $-\text{CH}_2$. Por outro lado, os picos 2958, 2915, 1376 e 1156 cm^{-1} , relativos aos grupos funcionais: $-\text{C}-\text{H}$ (CH_3), $-\text{CH}_2$, $\text{C}-\text{CH}_3$ e $\text{C}-\text{H}$ (benzeno), foram importantes para distinguir os compostos dos ninhos de colônias nidificadas em diferentes ambientes.

A figura 03 apresenta os espectros médios do esternitos de fêmeas adultas de colônias das duas espécies, nidificadas em dois tipos de ambientes com indicação dos picos selecionados para as análises estatísticas. Nos espectros, apenas por inspeção visual também não é possível identificar diferenças entre os grupos.

A Fig 4a, b e c, mostra o grau de similaridade entre perfil químico dos pedúnculos, dos esternitos das fêmeas e das outras regiões dos favos em colônias das duas espécies, respectivamente, nidificadas em dois tipos ambientes. O coeficiente cofenético de cada um foi de 0,87, 0,94 e 0,98, respectivamente.

O teste de mantel apontou relação significativa entre os perfis químicos do pedúnculo e dos esternitos das fêmeas ($r= 0,50$; $p=0,02$). Contudo, não apontou relação significativa entre os perfis químicos das outras regiões do ninho com os esternitos dos adultos ($r= 0,02$; $p=0,21$).

Discussão

Os resultados demonstram que há diferenças significativas entre os compostos químicos dos ninhos das duas espécies e, provavelmente, ao menos em parte estas diferenças são inerentes ao tipo de ambiente em que as colônias estavam nidificadas. Dessa forma, o perfil químico do ninho, pode servir como ferramenta taxonômica auxiliar para avaliar diferenças intra e interespecíficas entre espécies de vespas sociais.

Trabalhos como os de Kaib *et al* (1991) com térmitas, Martin *et al* (2008) com formigas e Baracchi *et al* (2010) com vespas Stenogastrinae destacam a importância do perfil de hidrocarbonetos como importante ferramenta taxonômica auxiliar para diferenciação de espécies. Contudo, todos estes trabalhos foram realizados a partir do perfil químico cuticular dos adultos. Além disso, sabe-se que os compostos químicos cuticulares de vespas em estágio imaturo e adultas tem íntima relação com os compostos do próprio ninho (Espelie *et al* 1994, Layton & Espelie 1995, Cotoneschi *et al* 2007). Portanto, é relevante que os compostos dos ninhos também tenham se mostrado efetivos para avaliar as diferenças inter e intraespecíficas nestes insetos, o que permite afirmar ainda a importância de se estudar o papel do perfil químico do ninho.

Os resultados demonstram ainda que há maior similaridade entre o perfil químico do pedúnculo e dos esternitos das fêmeas, o que não ocorreu entre os esternitos e as amostras de outras regiões do favo. Dessa forma, os resultados corroboram os de Espelie & Hermann (1990), Espelie *et al* (1990) e Singer & Espelie (1997), os quais destacam a importância do perfil químico do pedúnculo para compor o odor característico da colônia, uma vez que estes autores também encontraram maior similaridade entre os adultos e o pedúnculo do que em relação à composição de hidrocarbonetos do favo. Portanto, é inegável a importância que os hidrocarbonetos do ninho têm para compor a assinatura química cuticular da colônia.

Dessa forma, como já relatado por Singer & Espelie (1996, 1997) os compostos químicos presentes no ninho são importantes para o reconhecimento de companheiras de ninho. E, além disso, como já sugerido em outros estudos (Bagnères & Morgan 1991, Soroker *et al* 1994, Dani *et al* 1996, por Cruz-Landim *et al* 2012, Mitra & Gadagkar, 2014), as secreções glandulares devem ser importantes para compor a composição do perfil químico dos indivíduos, uma vez que o pedúnculo recebe várias secreções que atuam como repelentes de formigas e que auxiliam para reforçar sua estrutura (Jeanne 1970, 1972, Turillazzi & Ugolini 1979, Kojima 1983). Isso poderia explicar, ao menos em parte, as diferenças de composição química com as outras partes do ninho e, consequentemente ter papel importante nos mecanismos de reconhecimento.

Dapporto *et al* (2004a) observaram que em colônias de *P. dominula* os perfis de hidrocarbonetos cuticulares de adultos podem variar em relação ao local de nidificação. Assim, indivíduos de localidades vizinhas têm perfis cuticulares mais semelhantes do que os de outros locais comparativamente mais distantes. Logo, fica evidente que a composição do perfil químico cuticular é afetada não só por fatores genéticos, mas também por fatores exógenos (Singer 1998, Etges & Ahrens, 2001).

Outra característica dos hidrocarbonetos, que deve ser levada em conta, quando se propõe em usá-los como ferramenta taxonômica é a estabilidade. Num trabalho realizado por Sumana *et al* (2005) eles observaram que o número, a quantidade relativa e a natureza dos hidrocarbonetos presentes nos ninhos de *P. dominula* não diferiram significativamente mesmo após um ano, comprovando a estabilidade destes compostos.

Por fim, os resultados permitem destacar ainda a confiabilidade da técnica de FTIR-PAS para investigar variações intra e interespecíficas no perfil dos compostos químicos do ninho. Esta técnica apesar de ser utilizada em estudos desde 2007 para avaliar diferenças inter e intraespecífica do perfil químico em formigas e vespas (Antonialli-Junior *et al* 2007,

2008, Neves *et al* 2012, 2013, Torres *et al* 2014a, Soares *et al* 2014) utilizou apenas o perfil químico do adulto e não da composição do material do ninho.

Portanto, pode-se concluir que o perfil químico do ninho pode servir como ferramenta taxonômica para avaliar diferenças inter e intraespecíficas em vespas sociais. Neste sentido, a região do pedúnculo, em particular, expressa boa relação entre o próprio ninho e os indivíduos da colônia, sendo indicada para avaliar estas relações. Por fim, a técnica de FTIR-PAS, como em outros estudos, também mostrou-se confiável para avaliar diferenças qualitativas de perfil químico dos ninhos de vespas sociais.

Tabela 01. Número de onda, grupos funcionais e modo vibracional dos picos identificados nos espectros médios de absorção no infravermelho para as análises da composição química do substrato dos ninhos nas espécies de vespas *Polistes lanio* e *Polistes versicolor*.

Picos	Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Modo vibracional
1	2958 ^a	-C-H (CH ₃)	Estiramento assimétrico
2	2915 ^{a,b}	-CH ₂	Estiramento assimétrico
3	2877	-C-H (CH ₃)	Estiramento simétrico
4	2850	-CH ₂	Estiramento simétrico
5	1650	-C=C e/ou C=N amida	Estiramento
6	1457	C-CH ₂	Tesoura
7	1376 ^a	C-CH ₃	Dobra simétrica
8	1156 ^a	No plano C-H (benzeno)	Dobra

^a indica os picos que foram significativos para a separação dos ambientes; e ^b indica os picos que foram significativos para a separação das espécies.

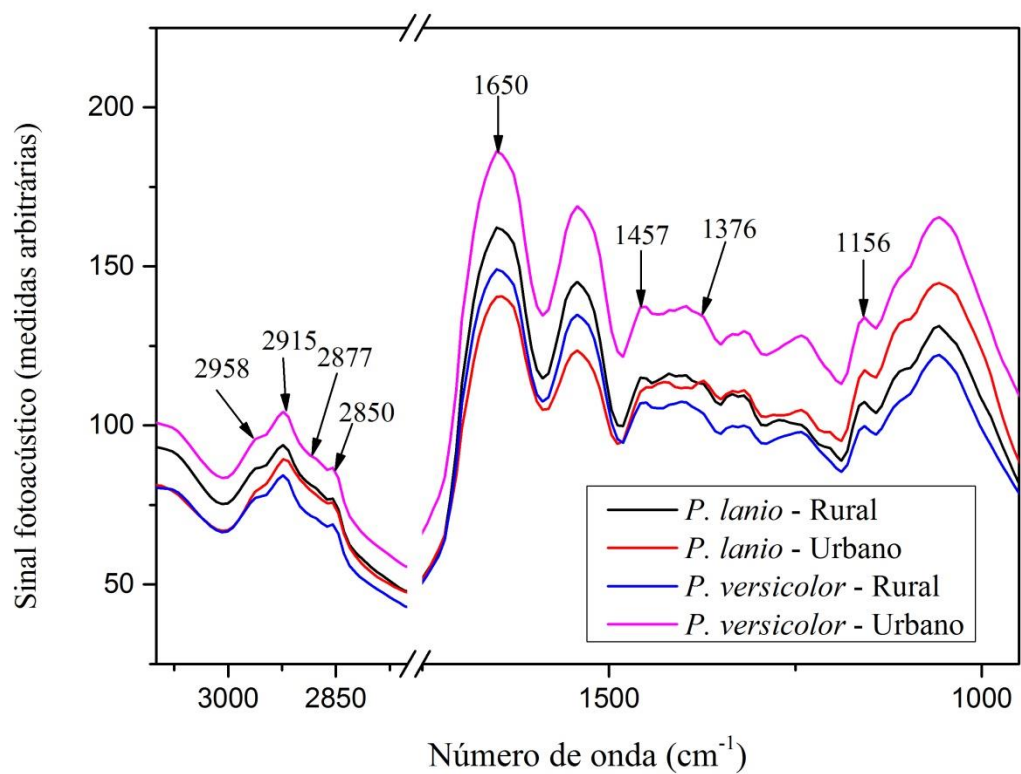


Figura 01. Espectros médios de absorção no infravermelho médio do perfil químico dos pedúnculos em *Polistes lanio* e *Polistes versicolor* coletadas em ambientes rural e urbano, com indicação dos picos utilizados para análise estatística.

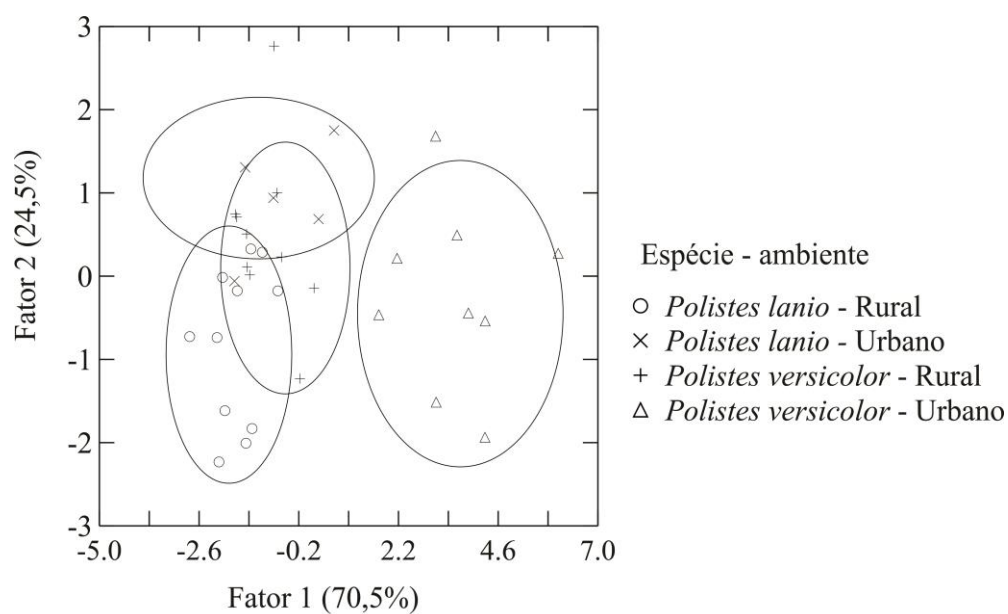


Figura 02. Gráfico de dispersão das amostras provenientes da análise de componentes principais (PCA) a partir do perfil químico do pedúnculo de vespas *Polistes lanio* e *Polistes versicolor*, coletadas em ambientes rural e urbano.

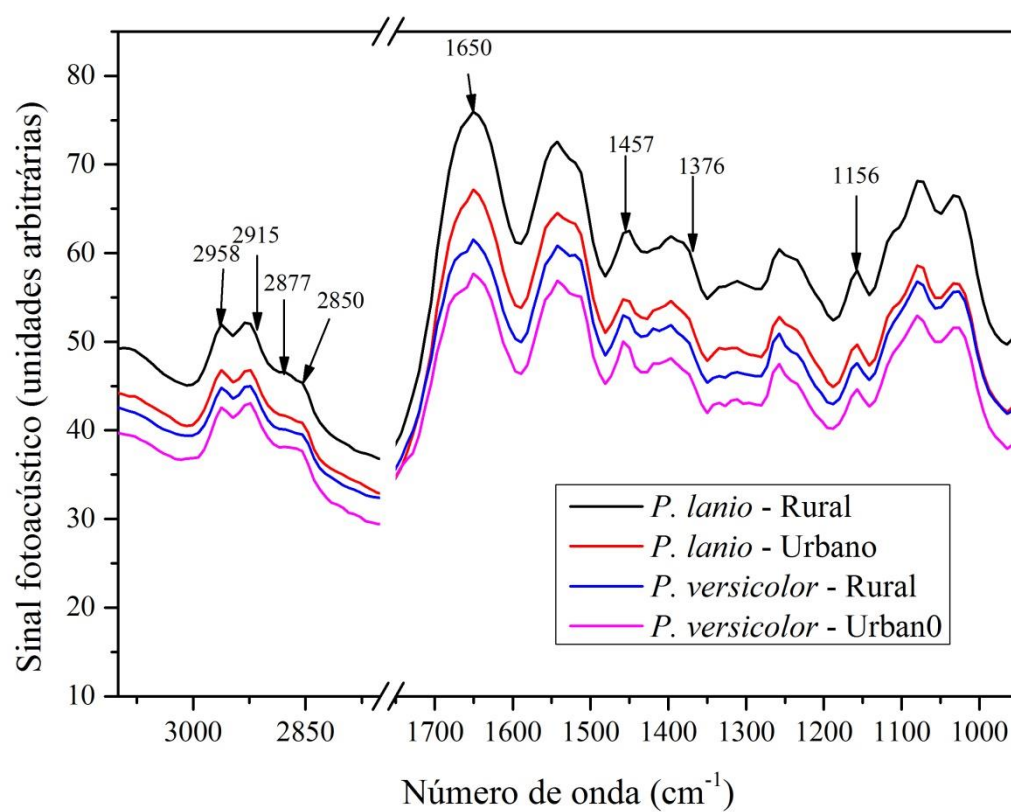


Figura 03. Espectros médios de absorção no infravermelho médio do perfil químico dos esternitos de fêmeas de *Polistes lanio* e *Polistes versicolor* coletadas em ambientes rural e urbano, com indicação dos picos utilizados para análise estatística.

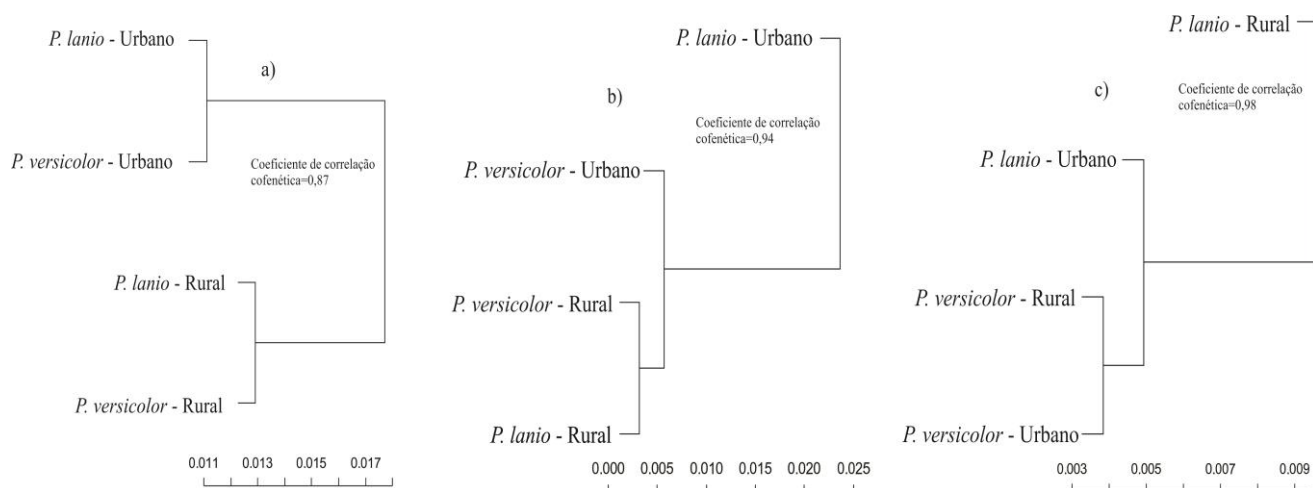


Figura 04. Dendrograma de similaridade baseado no perfil químico do pedúnculo (a), esternitos das fêmeas (b) e regiões do favo (c) realizados por meio da técnica de FTIR-PAS para as espécies *Polistes lanio* e *Polistes versicolor* coletadas em ambientes rural e urbano.

Referências Bibliográficas

Antonialli-Junior WF, Lima SM, Andrade LH, Suarez YR (2007) Comparative study of the cuticular hydrocarbon in queens, workers and males of *Ectatomma vizottoi* (Hymenoptera, Formicidae) by Fourier transform-infrared photoacoustic spectroscopy. Genet Mol Res 6: 492-499

Antonialli-Junior WF, Suarez YR, Izida T, Andrade LH (2008) Intra and interspecific variation of cuticular hydrocarbon composition in two *Ectatomma* species (Hymenoptera: Formicidae) based on Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. Genet Mol Res 7: 559-566

Arnold G, Quenet B, Corneut J, Masson C, De Schepper B, Estoup A, Gasqui P (1996) Kin recognition in honeybees. Nature 379, 498

Bagnères AG, Killian A, Clément JL, Lange C (1991) Interspecific recognition among termites of the genus *Reticulitermes*: Evidence for a Role for the cuticular hydrocarbons. J Chem Ecol 17: 2397-2420

Bagnères AG, Morgan ED (1991) The postpharyngeal gland and the cuticle of Formicidae contain the same characteristic hydrocarbons. Experientia 47: 106-111

Baracchi D, Dapporto L, Tesseo S, Hashim R, Turillazzi S (2010) Medium molecular weight polar substance of the cuticle as tools in the study of the taxonomy, systematics and chemical ecology of tropical hover wasps (Hymenoptera: Stenogastrinae). J. Zool. Syst. Evol., 48(2): 109-114.

Blomquist GJ, Bagnères AG (2010) Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry, and Chemical Ecology. Cambridge University Press, New York, 506p

Bonavita-Cougourdan A, Clément JL, Lange C (1987) Nestmate recognition: the role of cuticular hydrocarbons in the ant *Camponotus vagus*. Scop J Entomol Sci 22: 1-10

Breed MD, Williams KR, Fewell JH (1988a) Comb wax mediates the acquisition of nest-mate recognition cues in honey bees. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 8766-8769

Breed MD, Stiller TM, Moor MJ (1988b) The ontogeny of kin discrimination cues in the honeybee, *Apis mellifera*. *Behav Genet* 18: 439-448

Buczkowski DL, Frey HV, Roark JH, McGill GE (2005) Buried impact craters: A topographic analysis of quasi-circular depressions, Utopia Basin Mars. *J Geophys Res* 110: E03007

Carpenter JM, Marques OM (2001) Contribuição ao estudo dos vespídeos do Brasil (Insecta, Hymenoptera, Vespoidea, Vespidae). Cruz das Almas, Universidade Federal da Bahia - Publicações digitais, 147p

Cotoneschi C, Dani FR, Cervo R, Scala C (2009) *Polistes dominulus* (Hymenoptera, Vespidae) larvae show different cuticular patterns according to their sex: workers seem not use this chemical information. *Chem Senses* 34: 195-202

Cotoneschi C, Dani FR, Cervo R, Sledge MF, Turillazzi S (2007) *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) larvae have their own chemical signatures. *J Insect Physiol* 53: 954-963

Cruz-Landim C, Roat TC, Fernandez FC (2012) Virus present in the reproductive tract of asymptomatic drones of honey bee (*Apis mellifera* L.), and possible infection of queen during mating. *Microsc Res Tech* 75: 986-990

Cuvillier-Hot V, Cobb M, Malosse C, Peeters C, (2001) Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless ant. *J Insect Physiol* 47: 485-493

Dani FR, Fratini S, Turillazzi S (1996) Behavioural evidence for the involvement of Dufour's gland secretion in nestmate recognition in the social wasp *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae). *Behav Ecol Sociobiol* 38: 311-319

Dapporto L, Theodora P, Spacchini C, Turillazzi S (2004a) Rank and epicuticular hydrocarbons in different populations of the paper wasp *Polistes dominulus* (Christ) (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Soc* 51: 279-286

Dietermann V, Peeters C, Liebig J, Thivet V (1992) Cuticular hydrocarbons mediate discrimination of reproductives and non reproductives in the ant *Myrmecia gulosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 10341-10346.

Espelie KE, Gamboa GJ, Grudzien TA, Bura EA (1994) Cuticular hydrocarbons of the paper wasp, *Polistes fuscatus*: a search for recognition pheromones. *J Chem Ecol* 20: 1677-1687

Espelie KE, Hermann HR (1990) Surface lipids of the social wasp *Polistes annularis* (L.) and its nest and nest pedicel. *J chem Ecol* 16: 1841-1852

Espelie KE, Wenzel JW, Chang G (1990) Surface lipids of social wasp *Polistes metricus* Say and its nest and nest pedicel and their relation to nestmate recognition. *J Chem Ecol* 16: 2229-2241

Etges WJ, Ahrens MA (2001) Premating isolation is determined by larval rearing substrates in cactophilic *Drosophila mojavensis*. V. Deep geographic variation in epicuticular hydrocarbons among isolated populations. *Am Nat* 158: 585-598

Evans HE (1958) The evolution of social life in wasps. *Proc 10th Intern Congr Entomol* 2: 449-457

Evans HE, West-Eberhard MJ (1970) *The Wasps*. University of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan, 265p

Fowler HG (1983) Human effects on nest survivorship of urban synanthropic wasps. *Urban Ecol* 7:137-143

Gamboa GJ, Grudzier TA, Espelie KA, Bura EA (1996) Kin recognition pheromones in social wasps: Combining chemical and behavioural evidence. *Anim Behav* 51: 625-629

Gamboa GJ, Reeve HK, Pfennig DW (1986a) The evolution and ontogeny of nestmate recognition in social wasps. *Annu Rev Entomol* 31: 431-454

Greene RV, Gordon SH, Jackson MA, Bennett GA (1992) Detection of fungal contamination in corn: potential of FTIR-PAS and DRS. *J Agric Food Chem* 40: 1144-1149

Howard RW, McDaniel CA, Nelson DR, Blomquist GJ, Gelbaum LT, Zalkow, LH (1982) Cuticular hydrocarbons of *Reticulitermes virginicus* (Banks) (Isoptera, Rhinotermitidae) and their role as potential species-recognition and caste-recognition cues. *J Chem Ecol* 8: 1227-1239

Izzo A, Wells M, Huang Z, Tibbetts E (2010) Cuticular hydrocarbons correlate with fertility, not dominance, in a paper wasp, *Polistes dominulus*. *Behav Ecol Sociobiol* 64: 857-864

Jeanne RL (1970) Chemical Defense of Brood by a Social Wasp. *Science* 168(3938): 1465-1466

Jeanne RL (1972) The social Biology of Neotropical wasp *Mischocyttarus drewsenii*. *Bull Mus Comp Zool* 144(3): 63-150

Jeanne RL (1975) The adaptiveness of social wasp nest architecture. *Q Rev Biol* 50: 267-87.

Jones JC, Oldroyd BP (2007) Nest thermoregulation in social insects. *Adv Insect Physiol* 33: 153–191

Judd TM (1998) Defensive Behavior of Colonies of the Paper Wasp, *Polistes Fuscatus*, against Vertebrate Predators over the Colony Cycle. *Insectes Soc* 45(3): 347-47

Kaib M, Brandl R, Bagine RKN (1991) Cuticular hydrocarbons profiles: a valuable tool in termite taxonomy. *Naturwissenschaften*, 78:176–179

Kather R, SJ Martin (2012) Cuticular hydrocarbon profiles as a taxonomic tool: advantages, limitations and technical aspects. *Physiol Entomol* 37: 25-32

Kojima J (1983) Defense of the pre-emergence colony against ants by means of a chemical barrier in *Ropalidia fasciata* (Hymenoptera, Vespidae). Japan J Ecol 33: 213-223

Layton JM, Camann MA, Espelie KE (1994) Cuticular lipid profiles of queens, workers, and males of social wasps *Polistes metricus* Say are colony specific. J Chem Ecol 20(9): 2307-2320.

Layton JM, Espelie KE (1995) Effects of nest paper hydrocarbons on nest and nestmate recognition in colonies of *Polistes metricus* Say. J Insect Behav 8: 103-113

Le Moli F, Mori A, Grasso DA (1992) Nestmate and conspecific non-nestmate recognition in *Formica cunicularia* Latr.: the effect of diet difference. In Billen J (ed) Biology and evolution of social insects. Leuven University Press, Leuven, Belgium, pp 161-165

Liang D, Silverman J (2000) "You are what you eat": diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. Naturwissenschaften 87: 4 12-4 16

Lima MAP, Lima JR, Prezoto F (2000) Levantamento dos gêneros, flutuação das colônias e hábitos de nidificação de vespas sociais (Hymenoptera, Vespidae), no campus da UFJF, Juiz de Fora, MG. Rev Bras Zooc 2: 69-80

Lorenzi MC, Cervo R, Zacchi F, Turillazzi S, Bagnères AG (2004) Dynamics of chemical mimicry in the social parasite wasp *Polistes semenovi* (Hymenoptera Vespidae). Parasitology 129: 643-651

Lorenzi MC, Thompson JN (2011) The geographic structure of selection on a coevolving interaction between social parasitic wasps and their hosts hampers social evolution. Evolution 65: 3527–3542

MacGarigal K, Cushman SA, Stafford SG (2000) Multivariate statistics for Wildlife and Ecology Research. Nova York, Springer-Verlag, 299p

Martin SJ, Helantera H, Drijfhout FP (2008) Evolution of species-specific cuticular hydrocarbon patterns in *Formica* ants. Biol J Linn Soc 95: 131-140

McGlynn PT (2012) The ecology of nest movement in social insects. Annu Rev Entomol 57: 291-308

Mitra A, Gadagkar R (2014) The Dufour's Gland and the Cuticle in the Social Wasp *Ropalidia marginata* Contain the Same Hydrocarbons in Similar Proportions. J Insect Sci 14: 9

Monnin T (2006) Chemical recognition of reproductive status in social insects. Ann Zool Fenn 43:515–530

Neves EF, Andrade LHC, Suárez YR, Lima SM, Antonialli-Junior WF (2012) Age-related changes in the surface pheromones of the wasp *Mischocyttarus consimilis* (Hymenoptera: Vespidae). Genet Mol Res 11(3):1891-1898.

Neves EF, Montagna TS, Andrade LHC, Suárez YR, Lima SM, Antonialli-Junior WF (2013) Social parasitism and dynamics of cuticular hydrocarbons in paper wasps of the genus *Mischocyttarus*. J Kans Entomol Soc 86(1): 69-77

Page RE, Metcalf RA, Metcalf RL, Erickson EH, Lampman R (1991) Extractable hydrocarbons and kin recognition in honeybee. J Chem Ecol 17: 745-756

Panek LM, Gamboa GJ, KE Espelie (2001) The effect of a wasp's age on its cuticular hydrocarbon profile and its tolerance by nestmate and non-nestmate conspecifics (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae) Ethology 107: 55-63

Pfennig DW, Reeve HK, Shellman JS (1983) Learned component of nestmate discrimination in workers of a social wasp, *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae). Animal Behaviour, 31: 412–416

Prezoto F, Ribeiro-Júnior C, Oliveira SA, Elisei T (2007) Manejo de vespas e marimbondos em ambiente urbano In: Pinto AS, Rossi MM, Salmeron E (Org.). Manejo de Pragas Urbanas, Piracicaba, 234p

Provost MP, Troje NF, Quinsey VL (2008) Short-term mating strategies and attraction to masculinity in point-light walkers. *Evol Hum Behav* 29: 65-69

Ratnieks FLW (1991) Facultative sex allocation biasing by workers in social Hymenoptera. *Evolution* 24: 281-292

Reeve HK (1991) *Polistes*, p.99-148. In Ross KG, Mathews RW (eds.) *The Social Biology of Wasps*. Ithaca, Comstock Publishing Associates, xii+678 p

Richards OW (1978) *The social wasps of the Americas excluding the Vespinae*. London, British Museum Natural History, 580p

Richards OW, Richards MJ (1951) Observations on the social wasps of South America (Hymenoptera, Vespidae). *Trans R Entomol Soc Lond* 102:1-170

Silverstein RM, Webster FX (2000) *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 6ª ed. Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos, 530p

Singer TL (1998) Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. *American Zoologist* 38: 394-405

Singer TL, Espelie KE (1996) Nest surface hydrocarbons facilitate nestmate recognition for the social wasp, *Polistes metricus* Say (Hymenoptera: Vespidae). *J Insect Behav* 9: 857-870

Singer TL, Espelie KE (1997) Exposure to nest paper hydrocarbons is important for nest recognition by a social wasp, *Polistes metricus* Say (Hymenoptera, Vespidae). *Insect Soc* 44: 245-254

Skoog, DA, Holler FJ, Nieman TA (2002) *Princípios de Análise Instrumental*. 5ª ed. Bookman 836p

Sledge MF, Boscaro F, Turillazzi S (2001) Cuticular hydrocarbons and reproductive status in the social wasp *Polistes dominulus*. *Behav Ecol Sociobiol* 49: 401-409

Smith B (1999) *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*. New York: CRC Press, 200p

Soares ERP, Torres VO, Antonialli-Junior WF (2014) Reproductive Status of Females in the Eusocial Wasp *Polistes ferreri* Saussure (Hymenoptera: Vespidae). Neotrop Entomol 43: 500-508

Soroker V, Vienne C, Nowbahari E, Hefetz A (1994) The post pharyngeal glands as a 'Gestalt' organ for nestmate recognition in the ant *Cataglyphis niger*. Denkschr Schweiz Akad Natwiss 81: 510-513

Starr CK (1991) The nest as the locus of social life, p.520-539. In Ross KG, Mathews RW (eds.) The Social Biology of Wasps. Ithaca, Comstock Publishing Associates, xii+678 p

Sumana A, Liebert AE, Berry S, Switz GT, Orians CM., Starks PT (2005) Nest hydrocarbons as cues for philopatry in a paper wasp. Ethology 111: 469-477

Tannure-Nascimento IC, Nascimento FS, Turatti IC, Lopes NP, Trigo JR, Zucchi R (2007) Colony membership is reflected by variations in cuticular hydrocarbon profile in a Neotropical paper wasp, *Polistes satan* (Hymenoptera, Vespidae). Genet Mol Res 6: 290-296

Torres VO, Sguarizi-Antonio D, Lima SM, Andrade LHC, Antonialli-Junior WF (2014a) Reproductive status of the social wasp *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae) Sociobiology 61(2): 218-224

Torres RF, Torres VO, Suárez YR, Antonialli-Junior WF (2014b) Effect of the habitat alteration by human activity on colony productivity of the social wasp *Polistes versicolor* (Olivier) (Hymenoptera: Vespidae). Sociobiology 61(1): 100-106

Turillazzi S, Ugolini A (1978) Nest defense in European *Polistes* (Hymenoptera: Vespidae). Monitore Zoo Ital 12: 72

Turillazzi, S, Ugolini A (1979) Rubbing behaviour in some European *Polistes* (Hymenoptera: Vespidae). Monitore Zool Ital 13: 129-142

Wenzel JW (1998) A generic key to the nests of hornets, yellowjackets, and paper wasps worldwide (Vespidae: Vespinae, Polistinae). *Am Mus Novit* 3224: 1-39

Considerações Finais

A partir dos resultados é possível concluir que o perfil químico das regiões dos ninhos nas três espécies de *Polistes* diferem significativamente, diferenças estas provavelmente decorrentes do grau de interação com os indivíduos de diferentes estágios na colônia. Além disso, as regiões do pedúnculo e mecônio tiveram um perfil mais distante das demais regiões do favo, características estas que podem ser atribuídas pela origem da região e por secreções que podem ter sido adicionadas posteriormente, como no caso no pedúnculo. Dessa forma, o ninho pode ser quimicamente dividido em 3 regiões: mecônio, pedúnculo e células do favo.

Além disso, os resultados apontam que o perfil químico do ninho pode servir como ferramenta taxonômica para avaliar diferenças inter e intraespecíficas em vespas sociais e que a região do pedúnculo, em particular, expressa correlação positiva com o perfil dos indivíduos. E por fim, a técnica de FTIR-PAS mostrou-se confiável para avaliar diferenças intra e interespecíficas do perfil químico dos ninhos dessas vespas sociais.

Portanto, fica cada vez mais claro que compostos químicos, tanto da cutícula dos indivíduos quanto do ninho fazem parte de um complexo sistema de sinais que medeiam as interações de vespas sociais e que essa mistura pode variar por conta de fatores genéticos e exógenos.

Anexo I – Normas da Revista Neotropical Entomology

Instructions for Authors

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co -authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Sections

Submissions to the following sections will be taken into consideration: ‘Forum’, ‘Ecology, Behavior and Bionomics’, ‘Systematics, Morphology and Physiology’, ‘Biological Control’, ‘Pest Management’, ‘Public Health’, ‘Scientific Notes’.

Title Page

The title page should include: The section to which your article belongs to. o A concise and informative title. The name(s) of the author(s) – left-justified below the title; only initials of the first and middle names of authors are provided followed by their last names in full. Names of different authors are separated by a comma. Do not use “and” or “&” to separate different authors. The affiliation(s) of the author(s). The complete name, the regular and e-mail addresses, telephone and fax numbers of the corresponding author only. A running title no longer than 65 characters.

Abstract

Please provide a one-paragraph long abstract of up to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Text

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

Set page as A4 size and margins at 2.5 inches.

Use a normal, plain font (e.g., 12-point Times Roman) for text.

Lines must be double spaced.

The name of insect and mite species must be written in full and followed by the species author when first mentioned in the Title, Abstract and Main Text.

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.

Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Note: If you use Word 2007, do not create the equations with the default equation editor but use the Microsoft equation editor or MathType instead.

Save your file in doc format. Do not submit docx files.

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings. Headings in bold, sub-headings of the second level in roman, and level 3 sub-headings in italic font type.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Scientific Names

Write scientific names in full, followed by the author's name (for insect and mite species), whenever they first appear in the Abstract and Main text. Names should also be listed in full at the beginning of a paragraph or sentence. E.g., *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Use the abbreviated generic name (e.g., *S. Frugiperda*) in the rest of the paper, except in tables and figures, where the name should be in full.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

References

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. References to more than one publication are chronologically ordered, separated by commas. Use ‘&’ for two authors and italicized ‘et al’ for more than two authors. Some examples:

Negotiation research spans many disciplines (Panizzi 1990).

This result was later contradicted by Parra & Zucchi (2006).

This effect has been widely studied (Vilela 1991, Moscardi et al 1995, Frey da Silva & Grazia 2006, Moscardi et al 2009).

Reference List

Type references in alphabetical order, one per paragraph, with no space between them. The authors’ last names are typed in full, followed by capital initials. Use a comma to separate the names of authors.

Add the reference year after the authors’ names, between parentheses. Always use the standard abbreviation of a journal’s name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php. Please avoid citations of dissertations, theses and extension materials. Do not cite restricted-circulation materials (such as institutional documentation and research reports), partial research reports or abstracts of papers presented at scientific meetings.

Journal article

Grosman AH, Janssen A, Brito EF, Cordeiro EG, Colares F, Fonseca JO, Lima ER, Pallini A, Sabelis MW(2008) Parasitoid increases survival of its pupae by inducing hosts to fight predators. PLoS ONE 3(6):e2276. doi:10.1371/journal.pone.0002276

Article by DOI

Warner KD (2011) Fighting pathophobia: how to construct constructive public engagement with biocontrol for nature without augmenting public fears. BioControl doi:10.1007/s10526-011-9419-x

Book

Carey J R (1993) Applied demography for biologists with special emphasis on insects. New York, Oxford University Press, Inc, 206p.

Book chapter

Datnoff LE, Seebold KW, Correa FJ (2001) The use of silicon for integrated disease management reducing fungicide applications and enhancing host plant resistance, p.209-219. In Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH (eds) Silicon in agriculture. Amsterdam, Elsevier Science, 403p.

Online document

Monteiro RC, Lima EFB (2011) Thysanoptera of Brazil. <http://www.lea.esalq.usp.br/thysanoptera/>. Accessed 25 November 2011.

Dissertation

Nihei SS (2004) Sistemática e biogeografia de Muscini (Diptera, Muscidae). PhD. Thesis, Universidade Federal do Paraná.

Tables

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table. Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Artwork

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics (line art), the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts (Calibri type) embedded in the files.

Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art

Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

To add lettering, please use Calibri font only.

Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term Fig followed by a space and the figure number, both in roman type (e.g., Fig 1). No punctuation is to be included after the number.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

Figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that:

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

Electronic Supplementary Material

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Submission

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

Always use MPEG-1 (.mpg) format.

Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.

A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.

If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.

Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., “... as shown in the animation (Online Resource 3)”, “... additional data are given in Online Resource 4”.

Name the files consecutively, e.g. “ESM_3.mpg”, “ESM_4.pdf”.

Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that:

The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material.

Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk).

After acceptance

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer’s web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer’s online platform SpringerLink. We regret that Springer Open Choice cannot be ordered for published articles.

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, they agree to the Springer Open Choice Licence.

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color Illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

Proof Reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, no further changes can be made to the article. Scientific errors can be corrected by means of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.