

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

**Mecanismos controladores da determinação de casta em vespas
sociais de fundação independente: efeito da aplicação tópica de
hormônio juvenil em larvas de *Mischocyttarus consimilis***

Dourados - MS

Outubro - 2013

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

**Mecanismos controladores da determinação de casta em vespas
sociais de fundação independente: efeito da aplicação tópica de
hormônio juvenil em larvas de *Mischocyttarus consimilis***

Aluno: Thiago dos Santos Montagna

Orientador: Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior

Dourados - MS

Outubro – 2013

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

**Mecanismos controladores da determinação de casta em vespas
sociais de fundação independente: efeito da aplicação tópica de
hormônio juvenil em larvas de *Mischocyttarus consimilis***

Aluno: Thiago dos Santos Montagna

Orientador: Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Entomologia e Conservação da Biodiversidade,
Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Entomologia e Conservação da
Biodiversidade.

Dourados - MS

Outubro – 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

M758m	Montagna, Thiago dos Santos Mecanismos controladores da determinação de casta em vespas sociais de fundação independente: efeito da aplicação tópica de hormônio juvenil em larvas de <i>Mischocyttarus consimilis</i> / Thiago dos Santos Montagna – Dourados, MS: UFGD, 2013. 106f. il. Orientador: Prof. Dr. William Fernando Antonialli Júnior Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados. 1. Vespidae. 2. Determinação de casta. 3. Comportamento social. I. Título. CDD – 595.798
-------	--

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

“Mecanismos controladores da determinação de castas em vespas sociais de fundação independente: efeito da aplicação tópica de hormônio juvenil em larvas de *Mischocyttarus consimilis*”

Por

THIAGO DOS SANTOS MONTAGNA

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOCTOR EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação



Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior
(Orientador - UEMS)



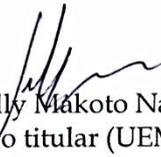
Prof. Dr. Valter Vieira Alves Junior
Membro titular (UFGD)



Prof. Dr. José Benedito Perrella Balestieri
Membro titular (UFGD)



Prof. Dr. Yzel Rondón Suárez
Membro titular (UEMS)



Prof. Dr. Jelly Makoto Nakagaki
Membro titular (UEMS)

Aprovada em: 29 de Outubro de 2013.

Dedicatória

*Dedico esse trabalho a minha esposa Mirian P. Alves, pelo
companheirismo e confiança.*

Epígrafe

O cientista não estuda a natureza por sua utilidade; ele a estuda por prazer, que advém do fato de a natureza ser bela. Se ela não fosse bela, não valeria a pena conhecê-la e, se não valesse a pena conhecê-la, não valeria a pena viver.

Henri Poincaré

AGRADECIMENTOS

Agradecer primeiramente à Deus pelo dom da vida e a oportunidade de poder concluir mais essa etapa.

Ao Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior pela orientação técnica e científica durante a realização desse trabalho, pelas críticas e incentivos que foram colocadas em momento oportunos e que contribuíram para minha formação e pelo companheirismo e amizade.

Aos meus familiares pelo apoio dado continuamente ao longo de vários anos.

A CAPES pela bolsa de doutorado possibilitando financeiramente a realização deste trabalho.

Aos profs. Dr. Josué Raizer e Dr. Yzel Rondon Suárez pelo auxílio nas análises estatísticas e pelas sugestões para o melhoramento do trabalho.

Ao prof. Dr. Orlando Tobias Silveira pela identificação da espécie investigada nesse trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade que de uma forma ou de outra contribuíram para a minha formação.

Aos colegas de laboratório pela parceria nas coletas de campo, trabalhos de laboratório e utilização de artigos científicos, pela amizade e confiança.

Ao secretário acadêmico Marcelo Cardoso Oliveira, por resolver as questões burocráticas que um curso de doutorado proporciona.

A todos os colegas de turma que proporcionaram momentos alegres e divertidos.

Ao FUNDECT, UEMS e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pelo apoio financeiro permitindo dessa forma a realização desse trabalho.

RESUMO

Em colônias de insetos sociais há uma pronunciada divisão de tarefas, das quais a função reprodutiva é exercida pela rainha. Divergência fenotípica baseada em ontogenia diferencial é conhecida por ser a principal força evolutiva que permitiu a divisão de trabalho reprodutivo entre as castas nos insetos sociais. Entretanto, os mecanismos controladores da determinação de casta em grupos sociais menos derivados permanecem largamente desconhecidos. Dessa forma, este trabalho teve por objetivo testar a hipótese de que a determinação de casta na vespa social de fundação independente *Mischocyttarus consimilis* é controlada pelo hormônio juvenil (HJ) em um estágio pré-imaginal. Para responder essa questão foram feitos estudos com colônias em condições de campo, assim como em condições experimentais. Os resultados demonstraram que o índice de tamanho do corpo é uma variável importante no estabelecimento da hierarquia reprodutiva entre as fêmeas fundadoras, bem como, essa variável influencia parâmetros fisiológicos reprodutivos dessas fêmeas. Nessa espécie operárias e gines diferem significativamente em tamanho do corpo. Foi demonstrado ainda que o HJ exerce função importante na determinação de casta nessa espécie, bem como seu efeito é instar-dependente. Fêmeas que emergiram de larvas tratadas com HJ no terceiro instar foram maiores e apresentaram na vida adulta comportamento diferenciado em relação às fêmeas que emergiram de larvas não tratadas. Esses resultados, portanto, apresentam evidências de que a determinação de casta nessa espécie pode em parte ocorrer em um estágio pré-imaginal, corroborando dessa forma com as hipóteses recentes que afirmam que a determinação de casta em insetos sociais menos derivados ocorre em um estágio pré-adulto.

PALAVRAS-CHAVE: Estratégia reprodutiva; Determinação de casta; Tamanho do corpo; Biologia do desenvolvimento; Insetos sociais; Polistinae.

ABSTRACT

In colonies of social insects there is a pronounced division of tasks, which the reproductive function is exercised by the queen. Phenotypic divergence based on differential ontogeny is known to play an important role in division of reproductive labor among the castes in the social insects. However, the mechanisms controlling the caste determination in social groups less advanced stay largely unknown. Thus, this work tested the hypothesis that caste determination in the social wasp of foundation independent *Mischocyttarus consimilis* is controlled by juvenile hormone (JH) in pre-imaginal stage. To answer that subject were made studies with colonies in field conditions, as well as in experimental conditions. The results demonstrated that body size is an important variable influencing the establishment of reproductive hierarchy among founders, as well as affecting reproductive physiology of those females. This species, workers and gynes emerge with significant differences in body size. In addition, it was demonstrated that JH plays an important role in pre-imaginal caste determination, as well as its instar-dependent effect. Females that emerged from treated larvae with JH in instar-third were higher in the adult stage and showed different behavior compared to females that emerged from non-treated larvae. These results therefore, present evidence that caste determination in this species may occur at least in part in pre-imaginal stage, corroborating with recent hypotheses that claim the caste determination in social insects less advanced occurs in pre-adult stage.

KEYWORDS: Reproductive strategy; Caste determination; Body size; Developmental biology; Social insects; Polistinae.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
Capítulo I - Introdução Geral	01
1. Revisão de Literatura	02
1.1. Introdução	02
1.2. Divisão de trabalho em colônias de vespas sociais	04
1.3. Determinação de casta e a evolução do comportamento social	05
1.4. Ciclo colonial e a determinação de castas em vespas sociais	07
1.5. Determinação de casta pós-imaginal em vespas sociais	09
1.6. Determinação de casta pré-imaginal em vespas sociais	10
2. Objetivos	13
3. Referências Bibliográficas	14
Capítulo II - Análise comparativa do tamanho do corpo e fisiologia reprodutiva de fundadoras, operárias e gines na vespa social, <i>Mischocyttarus consimilis</i>	24
Capítulo III - Efeito da aplicação tópica pré-imaginal de hormônio juvenil sobre o tamanho do corpo e fisiologia reprodutiva de fêmeas recém-emergidas na vespa social, <i>Mischocyttarus consimilis</i>	48
Capítulo IV - Efeito da aplicação tópica pré-imaginal de hormônio juvenil sobre o fenótipo comportamental e fisiologia reprodutiva de fêmeas adultas na vespa social, <i>Mischocyttarus consimilis</i>	76
Capítulo V - Considerações Finais	103

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

Figura 01. Índice de tamanho do corpo (média±DP) para as três categorias de fundadoras em *Mischocyttarus consimilis*, baseado em nove variáveis morfométricas. Letras indicam diferenças significativas ($p<0,05$).

Figura 02. Índice de desenvolvimento ovariano para as três categorias de fundadoras em *Mischocyttarus consimilis*. *Box-plot* representa a mediana, 25-75% percentis e intervalo mínimo/máximo. Letras indicam diferenças significativas ($p<0,05$).

Figura 03. Correlação entre o índice de tamanho do corpo e índice de desenvolvimento ovariano para as três categorias de fundadoras em *Mischocyttarus consimilis* ($r=0,41$; $P<0,01$).

Figura 04. Índice de tamanho do corpo (média±DP) para as três categorias de fêmeas recém-emergidas em *Mischocyttarus consimilis*, baseado em nove variáveis morfométricas. Letras indicam diferenças significativas ($p<0,05$).

Capítulo III

Figura 01. (A) Abrigo artificial para manutenção e manipulação experimental de colônias de vespas sociais. (B) Vista interna do abrigo artificial mostrando a posição da chapa de madeira, utilizada para a fixação da colônia. (C) Colônia fixada na chapa de madeira. (D) Procedimento de aplicação tópica de hormônio juvenil (HJ) a favor da gravidade, a partir do giro da chapa de madeira em 180 graus.

Figura 02. Variação no índice de tamanho do corpo (média±DP) de fêmeas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. ** ($p<0,01$); ns ($p>0,05$).

Figura 03. Frequência de ocorrência de dois tipos de ovários em fêmeas recém-emergidas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais.

Figura 04. Média do desenvolvimento larval (dias), para as diferentes fêmeas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. N.S. indica diferença não significativa ($p>0,05$).

Figura 05. Média do desenvolvimento pupal (dias), para as diferentes fêmeas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. N.S. indica diferença não significativa ($p>0,05$).

Capítulo IV

Figura 01. Proporção de tempo presente no ninho (%) por fêmeas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. *Box-plot* representa a mediana, 25-75% percentis e intervalo mínimo/máximo. ** ($p<0,01$); ns ($p>0,05$), após correção de Bonferroni.

Figura 02. Número de atos agressivos recebidos por hora de presença no ninho por fêmeas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. *Box-plot* representa a mediana, 25-75% percentis e intervalo mínimo/máximo. *** ($p<0,001$); * ($p<0,05$); ns ($p>0,05$), após correção de Bonferroni.

Figura 03. Comprimento médio dos ovócitos terminais de fêmeas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. *Box-plot* representa a média, 25-75% percentis e intervalo mínimo/máximo. N.S. indica diferença não significativa ($p>0,05$).

LISTA DE TABELAS

Capítulo III

Tabela 01. Taxa de mortalidade das larvas tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais, baseado em dados de sete colônias experimentais de *Mischocyttarus consimilis*.

Capítulo IV

Tabela 01. Valores (média±DP) para parâmetros comportamentais e fisiológicos de fêmeas adultas que foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais, baseado em dados de quatro colônias experimentais de *Mischocyttarus consimilis*.

Capítulo I

Introdução Geral

1. Revisão de Literatura

1.1. Introdução

Atualmente pertence à família Vespidae cerca de 4200 espécies de vespas descritas, as quais estão agrupadas em seis subfamílias monofiléticas (Carpenter, 1982; Hines *et al.*, 2007). Todas as vespas eussociais da família Vespidae estão classificadas em três subfamílias: Stenogastrinae, Vespinae e Polistinae (Carpenter, 1991). Análises cladísticas das relações entre os grupos de vespas eussociais em Vespidae indicam Stenogastrinae como sendo o grupo irmão de Polistinae e Vespinae, sendo esta, uma conclusão apoiada em características comportamentais (Carpenter, 1982) e em estudos realizados com fósseis de vespídeos primitivos (Carpenter & Rasnitsyn, 1990). Esta conclusão foi questionada por Schmitz & Moritz (1998), que com base em análise molecular, apontam Polistinae e Vespinae como tendo relações mais próximas com Eumeninae do que com Stenogastrinae.

A subfamília Stenogastrinae é composta por espécies que envolvem comportamento solitário ou social, sendo que as espécies sociais variam em diferentes graus de socialidade (Carpenter, 1993). Para essa subfamília são descritas aproximadamente 50 espécies, distribuídas em seis gêneros: *Liostenogaster*, *Stenogaster*, *Eustenogaster*, *Anischnogaster*, *Parischnogaster* e *Metischnogaster* (Carpenter, 1988). Stenogastrinae ocorre restritamente na Ásia tropical, e as espécies sociais estudadas com mais detalhes apresentam comportamento eussocial facultativo (Turillazzi, 1991).

A subfamília Vespinae compreende cerca de 60 espécies descritas, sendo que todas as espécies envolvem comportamento social mais derivado. Esta subfamília está dividida em quatro gêneros: *Vespa*, *Provespa*, *Dolichovespula* e *Vespula* (Carpenter, 1987). Representantes de Vespinae são encontrados principalmente na Região Holártica e nos Trópicos Orientais (Ásia), embora algumas espécies tenham sido introduzidas acidentalmente

na África do Sul, Havaí, Austrália, Nova Zelândia, Chile e Argentina. Nesse último, foi constatada a ocorrência de *Vespula germânica* (Carpenter & Kojima, 1997).

Em Polistinae encontram-se as espécies que fundam colônias de forma independente e por enxameagem (Carpenter, 1993). Essa subfamília abrange cerca de 800 espécies descritas e distribuídas em 29 gêneros: *Polistes* (= *Sulcopolistes*), *Ropalidia*, *Parapolybia*, *Polybioides*, *Belonogaster*, *Mischocyttarus*, *Apoica*, *Agelaia* (= *Stelopolybia*), *Angiopolybia*, *Pseudopolybia*, *Parachartergus*, *Chartergellus*, *Nectarinella*, *Leipomeles*, *Marimbonda*, *Synoecoides*, *Epipona*, *Clypearia*, *Synoeca*, *Metapolybia*, *Occipitalia*, *Asteloeca*, *Polybia*, *Protonectarina*, *Protopolybia*, *Pseudochartergus*, *Chaterginus*, *Chartergus* e *Brachygastra* (Carpenter, 1991). A distribuição de Polistinae é cosmopolita, sendo sua maior diversidade encontrada especialmente na região Neotropical (Carpenter & Marques, 2001). No Brasil existem registros para 22 gêneros de Polistinae, distribuídos desde a Floresta Amazônica até o Pantanal e Mata Atlântica (Carpenter & Marques, 2001).

Dentro da classificação atualmente mais aceita, essa subfamília é dividida em quatro tribos: Epiponini, Mischocyttarini, Ropalidiini e Polistini. As espécies dessas quatro tribos apresentam comportamento eussocial, mas diferem entre si quanto aos detalhes da vida social. O gênero *Mischocyttarus* é o maior entre os vespídeos sociais com aproximadamente 245 espécies descritas, as quais estão distribuídas em nove subgêneros (Silveira, 2008). Proposta mais recente de classificação tribal para Polistinae colocou o gênero *Mischocyttarus* e somente esse, na tribo Mischocyttarini, separado da tribo Epiponini como era anteriormente. *Mischocyttarus* difere dos demais Epiponini pelo alongamento e estreitamento do primeiro segmento gastral, e principalmente, pela assimetria dos três últimos artículos tarsais das pernas médias e posteriores. A distinção das espécies desse gênero é feita principalmente pela divisão da quilha pronotal (Richards, 1978). A maior revisão do gênero pode ser encontrada no trabalho de Richards (1945). O gênero *Mischocyttarus* apesar da diversidade relativamente

grande em comparação a outros gêneros de Polistinae apresenta uma distribuição quase restrita à parte tropical da América do Sul (Richards, 1971), sendo várias espécies consideradas endêmicas para o Brasil.

1.2. Divisão de trabalho em colônias de vespas sociais

Em colônias de vespas sociais há uma pronunciada divisão de tarefas, das quais a função reprodutiva é exercida pela rainha. Entretanto, em algumas sociedades, fêmeas subordinadas mantêm o potencial reprodutivo e pode assumir a função reprodutiva da colônia na ausência da rainha (Strassmann & Meyer, 1983; Monnin & Peeters, 1999). Nessas sociedades há uma hierarquia reprodutiva, que está intimamente associada à posição que cada fêmea ocupa dentro da hierarquia de dominância (van Doorn & Heringa, 1986; Bridge & Field, 2007; Bang & Gadagkar, 2012). Fêmeas melhores ranqueadas na hierarquia de dominância forrageiam menos, tem maior acesso à comida trazida pelas forrageadoras e são as mais cotadas para assumir a função reprodutiva da colônia na falta da reprodutora (Hughes & Strassmann, 1988; Molina & O' Donnell, 2008; Molina & O' Donnell, 2009).

Uma das questões centrais da divisão de trabalho é saber quais fatores pré-imaginais influenciam a morfologia e a ontogenia comportamental dos adultos, já que indivíduos nesses grupos são totipotentes. Na maioria das espécies sociais diferenças morfofisiológicas entre as castas é a principal força evolutiva que permite a divisão de trabalho reprodutivo (Giray *et al.*, 2005; Cervo *et al.*, 2008). Nesses grupos uma trajetória desenvolvimental diferenciada influenciada principalmente por nutrição, tem sido a regra para essas diferenças morfofisiológicas. A alimentação diferencial pré-imaginal é responsável por determinar o fenótipo de adultos em grupos de insetos sociais mais derivados, incluindo abelhas melíferas e vespas vespines (Haydak, 1943; Winston, 1987; Schmidt *et al.*, 2012), entretanto, pouco se sabe se este mecanismo ocorre em espécies menos-derivadas. Em vespas sociais de fundação

independente, uma análise das diferenças morfológicas entre castas sob a perspectiva nutricional pré-imaginal tem sido feita de forma especulativa (Eickwort, 1969; Haggard & Gamboa, 1980; Grechka & Kipyatkov, 1983; Miyano, 1998; Karsai & Hunt, 2002; Judd *et al.*, 2010). Nesses grupos o tamanho do corpo está intimamente associado ao comportamento de dominância e pode indicar o potencial reprodutivo da fêmea (Turillazzi & Pardi, 1977; Tindo *et al.*, 2007).

1.3. Determinação de casta e a evolução do comportamento social

A evolução do comportamento eussocial nos insetos tem sido tema central em biologia evolutiva. O comportamento eussocial nos insetos, conforme definido por Wilson (1971), pode ser encontrado quase que exclusivamente nas ordens Isoptera e Hymenoptera. Ao longo de vários anos diferentes hipóteses foram propostas para explicar a origem e manutenção do comportamento social nesses táxons. De acordo com as principais hipóteses, o altruísmo reprodutivo nos Hymenoptera, pode ter surgido por três formas distintas, sendo elas: seleção parental, mutualismo e manipulação parental (Gadagkar, 1990). São fortes as evidências, e há certo consenso quanto ao fato do comportamento eussocial ter surgido várias vezes independentemente entre os Hymenoptera sociais (Andersson, 1984).

Associações complexas como as encontradas nos Hymenoptera são compostas por um grande número de fêmeas completamente ou parcialmente estéreis (operárias) especializadas na manutenção e defesa da colônia, e uma única ou poucas fêmeas férteis (rainhas), especializadas na produção de ovos (Wilson, 1971). A origem e manutenção de indivíduos estéreis nessas associações são questões consideradas principais no estudo da evolução do comportamento eussocial.

De acordo com os critérios da vida social, o comportamento eussocial nos Hymenoptera teve ambas as predisposições ecológica e genética, como principais forças

evolutivas. Simpatizantes da ideia de predisposição ecológica defendem, que a vida em grupo conforme encontrado nos Hymenoptera sociais, foi beneficiada pelo aumento da capacidade de defesa individual, contra predadores, parasitas ou grupos co-específicos, e ainda, pela otimização da força de trabalho do grupo social (Krebs & Davies, 1993). Em termos genéticos, o fato de ajudar a criar os irmãos, as operárias passam seus próprios genes para a próxima geração, de modo que a predisposição genética para a ajuda torna-se óbvia (Hamilton, 1964; Krebs & Davies, 1993). Entretanto, a seleção e a evolução do comportamento social não só envolveu cooperação e benefício mútuo, uma vez que a seleção ao nível de indivíduo é muito mais forte, mas também implicou na geração de muitos conflitos, por existir intrinsecamente entre os membros da sociedade interesses individuais (Alexander, 1974).

De fato, Hamilton em 1964 já havia introduzindo a ideia de “Seleção Parental”, no qual destaca as vantagens genéticas do cuidado parental entre irmãos em detrimento da reprodução direta. É possível que a forma de determinação de sexo por haplodiploidia conforme observada nos Hymenoptera, tenha favorecido a evolução da eussocialidade, por assim promover um maior relacionamento genético entre os irmãos (Krebs & Davies, 1993). Essa hipótese tem se sustentado a partir de resultados de estudos recentes que mostram que indivíduos são capazes de reconhecerem parentes através da composição química da cutícula (Dapporto *et al.*, 2004; Lorenzi *et al.*, 2004; Sumana *et al.*, 2005).

Entretanto, Alexander (1974) enfatiza que a origem de uma casta trabalhadora em grupos solitários, foi o momento definitivo na evolução do comportamento eussocial, e dessa forma propôs a hipótese da “Manipulação Parental”. Segundo essa hipótese, são fortes as evidências de que a rainha em algumas espécies manipulava suas filhas ou outras fêmeas para não ovipositar, fazendo com que os indivíduos manipulados se tornassem reprodutivamente inviáveis. Charnov (1978) mostrou, que uma rainha ganha geneticamente persuadindo suas

filhas a permanecer na colônia para criar seus irmãos, enquanto que as filhas em termos genéticos não sofrem perda, de modo que se tornam vítimas voluntárias da persuasão maternal. Tal dominância tem como princípio restringir à alimentação aos indivíduos manipulados. Como resultado satisfatório da restrição por comida, a rainha poderia induzir algumas de suas filhas a se tornarem trabalhadoras.

As divergências fenotípicas, portanto, têm um papel importante na evolução e manutenção do comportamento social nos insetos. Estas diferenças fenotípicas são geradas pela expressão diferencial de genes (Evans & Wheeler, 1999; Judice *et al.*, 2004; Sumner *et al.*, 2006; Hunt *et al.*, 2010; Azevedo *et al.*, 2011). Este fenômeno é conhecido por ser o mecanismo comum da diferenciação morfofisiológica entre castas de insetos sociais (Evans & Wheeler, 2001; Schwander *et al.*, 2010).

1.4. Ciclo colonial e a determinação de castas em vespas sociais

As vespas sociais polistine apresentam em geral dois padrões de fundações de colônias, sendo esses, fundação independente e fundação por enxameagem (Ross & Matthews, 1991). Em grupos com fundação independente, a fundação da colônia pode ocorrer por ambas às formas haplométrica ou pleométrica (Jeanne, 1991). Em haplometrose uma única fêmea fecundada dá início a uma nova colônia e realiza todas as tarefas relacionadas à construção, manutenção e defesa da colônia até que as primeiras operárias emergem (Jeanne, 1991). Em pleometrose várias fêmeas participam na fase de fundação do ninho, que depois de estabelecido, uma única fêmea torna-se a dominante e realiza todo o trabalho reprodutivo (Jeanne, 1991). Colônias de fundação independente em geral apresentam poucos indivíduos, e os ninhos não possuem um envelope de cobertura. Esse padrão de fundação de colônias pode ser encontrado em quatro gêneros de Polistinae (*Polistes*, *Mischocyttarus*, *Belonogaster* e *Parapolybia*), e em algumas espécies de *Ropalidia* (Gadagkar, 1991).

Estudos demonstram que o ciclo colonial das vespas polistine é relativamente variável ao longo dos trópicos. Por exemplo, há uma sincronia no ciclo colonial de vespas sociais de fundação independente de regiões de climas temperados, com as fundações de colônias ocorrendo no início da primavera e o abandono ao final do outono e início do inverno (West Eberhard, 1969).

Ao contrário, as colônias de vespas sociais em região de clima tropical apresentam ciclos relativamente mais longos, sendo possível nesses locais, colônias permanecerem ativas por um período superior a um ano (Torres *et al.*, 2011). Também nessas condições, é possível verificar comportamentos de fundações e abandonos de colônias em qualquer época do ano. Dessa forma, colônias em diferentes fases de desenvolvimento podem coexistir numa mesma população, sendo esse comportamento classificado como assincrônico (Giannotti, 1997). Nessas condições, machos podem estar presente no ambiente em qualquer período do ano (Hunt, 1999). Por exemplo, ciclo colonial assincrônico foi descrito para *M. drewseni* (Jeanne 1972), *M. mastigophorus* (O' Donnell & Joyce, 2001) e *M. cerberus* (Giannotti, 1998), assim como para *M. consimilis* (Torres *et al.*, 2011). Ao contrário, outros trabalhos mostraram existir em vespas tropicais a formação de agregados de inverno, sendo esse comportamento considerado facultativo para o ciclo biológico nessas condições (González *et al.*, 2002; Tannure-Nascimento *et al.*, 2005; Gobbi *et al.*, 2006).

Em vespas sociais de fundação independente a produção de castas está intimamente associada ao estágio colonial (Miyano, 1983; Keeping, 2002; Dani, 1994; Suryanarayanan *et al.*, 2011a; Hunt *et al.*, 2007; Suryanarayanan *et al.*, 2011b; Gobbi *et al.*, 2006). Por exemplo, em *Mischocyttarus consimilis* operárias são produzidas em colônias iniciais, especialmente porque colônias nessa fase têm grande demanda por força-de-trabalho (Torres *et al.*, 2011). Operárias se dedicam à manutenção e defesa da colônia, bem como ao cuidado dos imaturos. Ao contrário, gines são produzidas em colônias maduras e na maioria dos casos tem maior

tamanho do corpo que operárias. Gines investem na reprodução própria e pouco contribuem com a colônia maternal (Keeping, 1997).

Fundação por enxameagem caracteriza-se pela presença de uma ou mais rainhas acompanhadas por um grupo de operárias. O ninho é todo construído pelas operárias e sem qualquer contribuição da rainha nesta tarefa. Colônias de fundação por associação são relativamente grandes, e os ninhos são frequentemente protegidos por um envelope de cobertura. Esse tipo de fundação é encontrado em 20 gêneros de Polistinae, que inclui 19 gêneros da tribo Epiponini que ocorrem na região Neotropical (Jeanne, 1991).

1.5. Determinação de casta pós-imaginal em vespas sociais

A determinação de casta em vespas sociais, em geral, ocorre por uma ou outra forma pré ou pós-imaginal. Especialmente em vespas sociais de fundação independente, a ausência de características morfológicas distintas entre rainhas funcionais e operárias, é frequentemente citada como evidência de que a determinação de casta nesse grupo ocorre na fase pós-imaginal (Gadgil & Mahabal, 1974; Haggard & Gamboa, 1980; Turillazzi, 1980; Solís & Strassmann, 1990; Mead & Gabouriaux, 1993). Para esses grupos tem sido demonstrado que comportamentos antagônicos entre os indivíduos adultos estabelecem as relações de dominância e fêmeas que sofrem agressões físicas assumem a submissão e se comportam como uma casta trabalhadora (Gadagkar, 1991).

Para a maioria das espécies eussociais menos derivadas, há pouca ou nenhuma diferença morfológica entre fêmeas reprodutivas e estéreis. Isso sugere que a divisão de trabalho reprodutivo nesses grupos ocorra durante a fase adulta, na qual os indivíduos mostram considerável flexibilidade no papel social que exercem na medida em que interagem com outros membros da colônia (Gadagkar, 1991). Entretanto, essa afirmação tem sido recentemente questionada a partir de evidências fisiológicas que mostram a possibilidade de

determinação de casta pré-imaginal em membros de Polistinae sem diferenças morfológicas, nos quais se pensava antes que tal determinação não ocorria (Keeping, 2002). Estudos recentes sugerem que a determinação de castas pré-imaginal pode de fato ocorrer, sem que haja necessariamente diferenciação morfológica evidente entre fêmeas adultas (O' Donnell, 1998).

1.6. Determinação de casta pré-imaginal em vespas sociais

A identificação de fatores pré-imaginais que determinam a distinção morfofisiológica entre castas nos grupos menos derivados é tema pouco explorado entre os sociobiologistas, devido à idéia preconizada desde longo tempo, que a determinação de casta nesses grupos ocorria durante a vida adulta. Entretanto, para algumas espécies de vespas sociais polistine que apresenta o padrão de fundação independente, há evidências de que a determinação de casta ocorra no estágio pré-imaginal (Gadagkar *et al.*, 1988; Gadagkar *et al.*, 1990; Keeping, 2002; Tibbetts & Curtis, 2007; Judd *et al.*, 2010). Esses estudos sugerem que divergência física entre operárias e gines nesses grupos pode ser atribuída a diferenças nutricionais durante o desenvolvimento larval (Hunt, 1991; Jeanne, 1991). Nessa perspectiva, vários autores sugerem que as operárias são vítimas de castração nutricional ao serem desprovidas de nutrição adequada enquanto larvas, tornando-se adultos com ovários não desenvolvidos. Evidências de determinação de castas pré-imaginal trófica, também tem sido documentada em membros de Epiponini e Ropalidiini, por meio de estudos morfométricos, mostrando padrões de dimorfismo que não podem ser explicados por crescimento alométrico, levantando assim, a hipótese de reprogramação de parâmetros de crescimento durante o desenvolvimento larval (Gadagkar, 1991; Wenzel, 1992; Hunt *et al.*, 1996; Jeanne, 1996). Essas evidências somadas sugerem a possibilidade de um mecanismo comum de determinação de casta pré-imaginal em

vespas sociais, o qual pode ter sido selecionado ao longo da evolução deste grupo (O'Donnell, 1998; Hunt, 2006).

De fato, estudos recentes evidenciam que o desenvolvimento de larvas em colônias de insetos sociais menos-derivados pode ser manipulado pelos adultos por mecanismos que envolvem estresse mecânico (Jeanne & Suryanarayanan, 2011; Suryanarayanan *et al.*, 2011a; Suryanarayanan *et al.*, 2011b). Por exemplo, Suryanarayanan *et al.*, (2011a) demonstraram que larvas de *Polistes fuscatus* desenvolvendo-se em colônias jovens experimentam altos níveis de antenação em comparação às larvas que se desenvolvem em colônias maduras. O comportamento de antenação é executado contra as paredes das células ocupadas por larvas e produz um barulho audível, funcionando como um mecanismo que promove estresse, sendo que, larvas submetidas a altos níveis deste tipo de interferência durante seu desenvolvimento emergem com fenótipo típico de operárias, enquanto que larvas que experimentam baixos níveis emergem com fenótipo típico de gines (Suryanarayanan & Jeanne, 2008; Suryanarayanan *et al.*, 2011b).

É esperado que tanto fatores nutricionais quanto mecânicos-estressores, desencadeiem processos fisiológicos que envolvem mudanças nos títulos de hormônios controladores da determinação de casta, em especial o hormônio juvenil (HJ). O HJ é conhecido por desempenhar uma função importante no processo de determinação de casta pré-imaginal em todos os insetos sociais (Wheeler, 1986).

Evidências apresentadas em estudos recentes sugerem que o HJ possa estar envolvido na determinação de casta pré-imaginal em vespas sociais de fundação independente. Por exemplo, na vespa social *Polistes dominulus* foi demonstrado que o padrão facial de gines sinalizando alto potencial reprodutivo é fixado antes da emergência do adulto e são ditos por serem controlados pelo HJ (Tibbetts, 2006). Um estudo experimental utilizando mRNAi para a proteína de estoque *Hexamerin1*, uma proteína estreitamente associada com a determinação

de casta em *Apis mellifera*, mostrou ser afetada pelos níveis de HJ durante a determinação de casta em *Polistes metricus* (Hunt *et al.*, 2011). Da mesma forma, diferenças quantitativas em compostos da cutícula entre fundadoras e operárias de *Polistes dominulus* foram sugeridas por serem mediadas por hormônios, incluindo o HJ, durante o desenvolvimento pré-imaginal (Dapporto *et al.*, 2008). Além disso, tem sido sugerido que o HJ possa estar envolvido na expressão diferencial de genes que conduzem diferenças fenotípicas entre castas em *Polistes canadensis* (Sumner *et al.*, 2006).

2. Objetivos

Este trabalho tem por objetivo testar a hipótese de que a determinação de casta na vespa social de fundação independente *Mischocyttarus consimilis* é controlada pelo hormônio juvenil em um estágio pré-imaginal, dos quais especificamente compreendem: (1) A aplicação tópica de hormônio juvenil em larvas de diferentes instares irá produzir fêmeas com padrão morfométrico diferenciado daquelas que não receberão este tratamento; (2) A aplicação tópica de hormônio juvenil em larvas de diferentes instares irá produzir fêmeas com desenvolvimento ovariano diferenciado daquelas que não receberão este tratamento; (3) A aplicação tópica de hormônio juvenil em larvas de diferentes instares irá produzir fêmeas com fenótipo comportamental diferenciado daquelas que não receberão este tratamento.

3. Referências Bibliográficas

- Alexander, R. D. 1974. The evolution of social behaviour. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 5: 325-383.
- Andersson, M. 1984. The evolution of eusociality. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 15: 165-189.
- Azevedo, S. V.; Caranton, O. A. M.; Oliveira, T. L. & Hartfelder, K. 2011. Differential expression of hypoxia pathway genes in honey bee (*Apis mellifera* L.) caste development. *Journal of Insect Physiology* 57: 38-45.
- Bang, A. & Gadagkar, R. 2012. Reproductive queue without overt conflict in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 109: 14494-14499.
- Bridge, C. & Field, J. 2007. Queuing for dominance: gerontocracy and queue-jumping in the hover wasp *Liostenogaster flavolineata*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61: 1253-1259.
- Carpenter, J. M. 1982. The phylogenetic relationships and natural classification of the Vespoidea (Hymenoptera). *Systematic Entomology*, 7: 11-38.
- Carpenter, J. M. 1987. Phylogenetic relationships and classification of the Vespinae (Hymenoptera: Vespidae). *Systematic Entomology*, 12: 413-431.
- Carpenter, J. M. 1988. The phylogenetic system of the Stenogastrinae (Hymenoptera: Vespidae). *Journal of the New York Entomological Society*, 96: 140-175.
- Carpenter, J. M. 1991. Phylogenetic relationships and the origin of social behavior in the Vespidae. In K.G. Ross & R.W. Matthews (editors), *The social biology of wasps*, pp. 7-32. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678pp.

- Carpenter, J. M. 1993. Biogeographic patterns in the Vespidae (Hymenoptera): Two views of Africa and South America. In: P. Goldblatt (editor), Biological relationships between Africa and South America, pp. 139-155. New Haven, CT: Yale University Press. 630p.
- Carpenter, J. M. & Rasnitsyn, A. P. 1990. Mesozoic Vespidae. *Psyche*, 97: 1-20.
- Carpenter, J. M. & Kojima, J. 1997. Checklist of the species in the subfamily Vespinae (Insecta: Hymenoptera; Vespidae). *Natural History Bulletin of Ibaraki University*, 1: 51-92.
- Carpenter, J. M. & Marques O. M. 2001. Contribuição ao estudo dos vespídeos do Brasil (Insecta, Hymenoptera, Vespidae, Vespidae). Cruz das Almas, Universidade Federal da Bahia. Publicações Digitais, Vol. II.
- Cervo, R.; Dapporto, L.; Beani, L.; Strassmann, J. E. & Turillazzi, S. 2008. On status badges and quality signals in the paper wasp *Polistes dominulus*: body size, facial colour patterns and hierarchical rank. *Proceedings of the Royal Society of London B* 275: 1189-1196.
- Charnov, E. L. 1978. Evolution of eusocial behavior: Offspring choice or parental parasitism? *Journal of Theoretical Biology*, 75: 451-465.
- Dani, F. R. 1994. Caste size differences in *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology Ecology & Evolution, Special Issue 3*: 67-73.
- Dapporto, L., Pansolli, C. & Turillazzi, S. 2004. Hibernation clustering and its consequences for associative nest foundation in *Polistes dominulus* (Hymenoptera Vespidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 56: 315-321.
- Dapporto, L.; Lambardi, D. & Turillazzi, S. 2008. Not only cuticular lipids: first evidence of differences between foundresses and their daughters in polar substances in the paper wasp *Polistes dominulus*. *Journal of Insect Physiology* 54: 89-95.

- Eickwort, K. 1969. Separation of the castes of *Polistes exclamans* and notes on its biology (Hym.: Vespidae). *Insectes Sociaux* 16: 67-72.
- Evans, J. D. & Wheeler, D. E. 1999. Differential gene expression between developing queens and workers in the honey bee, *Apis mellifera*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 96: 5575-5580.
- Evans, J. D. & Wheeler, D. E. 2001. Gene expression and the evolution of insect polyphenisms. *BioEssays* 23: 62-68.
- Gadagkar, R. 1990. Origin and evolution of eusociality: A perspective from studying primitively eusocial wasps. *Journal of Genetics* 69: 113-125.
- Gadagkar, R. 1991. *Belonogaster*, *Mischocyttarus*, *Parapolybia*, and independent founding *Ropalidia*. In K.G. Ross & R.W. Matthews (editors), *The social biology of wasps*, pp. 149–190. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678p.
- Gadagkar, R.; Vinutha, C.; Shanubhogue, A. & Gore, A. P. 1988. Pre-imaginal biasing of caste in a primitively eusocial insect. *Proceedings of the Royal Society of London B* 233: 175-189.
- Gadagkar, R.; Bhagavan, S.; Malpe, R. & Vinutha, C. 1990. On reconfirming the evidence for pre-imaginal caste bias in a primitively eusocial wasp. *Proceedings of the Indian Academy of Science B* 99: 141-150.
- Gadagkar, R.; Bhagavan, S.; Chandrashekara, K. & Vinutha, C. 1991. The role of larval nutrition in pre-imaginal biasing of caste in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata* (Hymenoptera, Vespidae). *Ecological Entomology* 16: 435-440.
- Gadgil, M. & Mahabal, A. 1974. Caste differentiation in the paper wasp *Ropalidia marginata* (Lep.). *Current Science* 43: 482.
- Giannotti, E. 1997. Biology of the wasp *Polistes (epicnemius) cinerascens* Sausure (Hymenoptera: Vespidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 26: 61-67.

- Giannotti, E. 1998. The colony cycle of the social wasp, *Mischocyttarus cerberus styx* Richards, 1940 (Hymenoptera, Vespidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 41: 217-224.
- Giray, T.; Giovanetti, M. & West-Eberhard, M. J. 2005. Juvenile hormone, reproduction, and worker behavior in the neotropical social wasp *Polistes canadensis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 102: 3330-3335.
- Gobbi, N., Noll, F. B. & Penna, M. A. H. 2006. “Winter” aggregations, colony cycle, and seasonal phenotypic change in the paper wasp *Polistes versicolor* in subtropical Brazil. *Naturwissenschaften*, 93: 487-494.
- González, J. A., Nascimento, F. S. & Gayubo, S. F. 2002. Observations on the winter aggregates of two polistine paper wasps (Hymenoptera Vespidae Polistinae). *Tropical Zoology*, 15: 1-4.
- Grechka, E. O. & Kipyatkov, V. Y. 1983. Seasonal developmental cycle and caste differentiation in the social wasp, *Polistes gallicus* L. (Hymenoptera: Vespidae). I. Phenology and life cycle regulation. *Entomological Review* 62: 19-31.
- Haggard, C. M. & Gamboa, G. J. 1980. Seasonal variation in body size and reproductive condition of a paper wasp, *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *The Canadian Entomologist* 112: 239-248.
- Hamilton, W. D. 1964. The genetical evolution of social behaviour. *Journal of Theoretical Biology* 7: 1-52.
- Haydak, M. H. 1943. Larval food and the development of castes in honeybee. *Journal of Economic Entomology* 36: 778-792.
- Hines, H. M.; Hunt, J. H.; O’Connor, T. K.; Gillespie, J. J. & Cameron, S. A. 2007. Multigene phylogeny reveals eusociality evolved twice in vespid wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 104: 3295-3299.

- Hughes, C. R. & Strassmann, J. E. 1988. Age is more important than size in determining dominance among workers in the primitively eusocial wasp, *Polistes instabilis*. *Behaviour* 107: 1-14.
- Hunt, J. H. 1991. Nourishment and the evolution of the social Vespidae. In Ross, K. G. & Matthews, R. W. (editores). *The social biology of wasps*. pp. 426-450. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678pp.
- Hunt, J. H. 1999. Trait mapping and salience in the evolution of eusocial vespid wasps. *Evolution*, 53: 225-237.
- Hunt, J. H. 2006. Evolution of caste in *Polistes*. *Annales Zoologici Fennici* 43: 407-422.
- Hunt, J. H., Schmidt, D. K., Mulkey, S. S. & Williams, M. A. 1996. Caste dimorphism in the wasp *Epipona guerini* (Hymenoptera: Vespidae, Polistinae, Epiponini): Further evidence for larval determination. *Journal of the Kansas Entomological Society*, suppl., 69: 362-369.
- Hunt, J. H.; Kensinger, B. J.; Kossuth, J. A.; Henshaw, M. T.; Norberg, K.; Wolschin, F. & Amdam, G. V. 2007. A diapause pathway underlies the gyne phenotype in *Polistes* wasps, revealing an evolutionary route to caste-containing insect societies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 104: 14020-14025.
- Hunt, J. H.; Wolschin, F.; Henshaw, M. T.; Newman, T. C.; Toth, A. L. & Amdam, G. V. 2010. Differential gene expression and protein abundance evince ontogenetic bias toward castes in a primitively eusocial wasp. *PLoS ONE* 5: e10674.
- Hunt, J. H.; Mutti, N. S.; Havukainen, H.; Henshaw, M. T. & Amdam, G. V. 2011. Development of an RNA interference tool, characterization of its target, and an ecological test of caste differentiation in the eusocial wasp *Polistes*. *PLoS ONE* 6: e26641.

- Jeanne, R. L. 1972. Social biology of the neotropical wasp *Mischocyttarus drewseni*. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology, 144: 63-150.
- Jeanne, R. L. 1991. The swarm-founding Polistinae. In K.G. Ross & R.W. Matthews (editors), The social biology of wasps, pp. 191–231. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678pp.
- Jeanne, R. L. 1996. Non-allometric queen-worker dimorphism in *Pseudopolybia difficilis* (Hymenoptera: Vespidae). Journal of the Kansas Entomological Society, suppl., 69: 370-374.
- Jeanne, R. L. & Suryanarayanan, S. 2011. A new model for caste development in social wasps. Communicative & Integrative Biology 4: 373-377.
- Judd, T. M.; Magnus, R. M. & Fasnacht, M. P. 2010. A nutritional profile of the social wasp *Polistes metricus*: differences in nutrient levels between castes and changes within castes during the annual life cycle. Journal of Insect Physiology 56: 42-56.
- Judice, C.; Hartfelder, K. & Pereira, G. A. G. 2004. Caste-specific gene expression in the stingless bee *Melipona quadrifasciata* - Are there common patterns in highly eusocial bees? Insectes Sociaux 51: 352-358.
- Karsai, I. & Hunt, J. H. 2002. Food quantity affects traits of offspring in the paper wasp *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). Environmental Entomology 31: 99-106.
- Keeping, M. G. 1997. Social behavior and brood decline in reproductive-phase colonies of *Belonogaster petiolata* (Degeer) (Hymenoptera: Vespidae). Journal of Insect Behavior 10: 265-278.
- Keeping, M. G. 2002. Reproductive and worker castes in the primitively eusocial wasp *Belonogaster petiolata* (DeGeer) (Hymenoptera: Vespidae): evidence for pré-imaginal differentiation. Journal of Insect Physiology, 48: 867-879.

- Krebs, J. R. & Davies, N. B. 1993. An introduction to behavioural ecology. 3ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications. 420p.
- Lorenzi, M. C., Sledge, M. F., Laiolo, P., Sturlini, E. & Turillazzi, S. 2004. Cuticular hydrocarbon dynamics in young adult *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) and the role of linear hydrocarbons in nestmate recognition systems. *Journal of Insect Physiology*, 50: 935–941.
- Mead, F. & Gabouriaut, D. 1993. Post-eclosion sensitivity to social context in *Polistes dominulus* Christ females (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Sociaux* 40: 11-20.
- Miyano, S. 1983. Number of offspring and seasonal changes of their body weight in a paperwasp, *Polistes chinensis antennalis* Pérez (Hymenoptera: Vespidae), with reference to male production by workers. *Researches on Population Ecology* 25: 198-209.
- Miyano, S. 1998. Amount of flesh food influences the number, larval duration, and body size of first brood workers, in a Japanese paper wasp, *Polistes chinensis antennalis* (Hymenoptera: Vespidae). *Entomological Science* 1: 545-549.
- Molina, Y. & O' Donnell, S. 2008. A developmental test of the dominance-nutrition hypothesis: linking adult feeding, aggression, and reproductive potential in the paperwasp *Mischocyttarus mastigophorus*. *Ethology Ecology & Evolution* 20: 125-139.
- Molina, Y. & O' Donnell, S. 2009. Worker reproductive competition affects division of labor in a primitively social paperwasp (*Polistes instabilis*). *Insectes Sociaux* 56: 14-20.
- Monnin, T. & Peeters, C. 1999. Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. *Behavioral Ecology* 10: 323-332.
- O' Donnell, S. 1998. Reproductive caste determination in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Annual Reviews of Entomology* 43: 323-446.

- O' Donnell, S. & Joyce, F. J. 2001. Seasonality and colony composition in a Montane Tropical eusocial wasp. *Biotropica*, 33: 727-732.
- Richards, O. W. 1945. A revision of the genus *Mischocyttarus* de Saussure (Hymenoptera, Vespidae). *Transactions of the Royal Entomological Society*, 95: 295-462.
- Richards, O. W. 1971. The biology of the social wasps (Hymenoptera, Vespidae). *Biological Reviews*, 46: 483-528.
- Richards, O. W. 1978. The social wasps of the Americas, excluding the Vespinae. London, British Museum (Natural History). 580pp.
- Ross, K.G. & Matthews, R.W. 1991. The social biology of wasps. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678pp.
- Schmitz, J. & Moritz, R. F. A. 1998. Molecular phylogeny of Vespidae (Hymenoptera) and the evolution of sociality in wasps. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9: 183-191.
- Schmidt, K. C.; Hunt, B. G. & Smith, C. R. 2012. Queen, worker, and male yellowjacket wasps receive different nutrition during development. *Insectes Sociaux* 59: 289-295.
- Schwander, T.; Lo, N.; Beekman, M.; Oldroyd, B. P. & Keller, L. 2010. Nature versus nurture in social insect caste differentiation. *Trends in Ecology and Evolution* 25: 275-282.
- Silveira, O. T. 2008. Phylogeny of wasps of the genus *Mischocyttarus* de Saussure (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae). *Revista Brasileira de Entomologia* 52: 510-549.
- Solís, C. R. & Strassmann, J. E. 1990. Presence of brood affects caste differentiation in the social wasp, *Polistes exclamans* Viereck (Hymenoptera: Vespidae). *Functional Ecology* 4: 531-541.
- Strassmann, J. E. & Meyer, D. C. 1983. Gerontocracy in the social wasp, *Polistes exclamans*. *Animal Behaviour* 31: 431-438.
- Sumana, A., Liebert, A. E., Berry, A. S., Switz, G. T. Orians, C. M., & Starks, P. T. 2005. Nest hydrocarbons as cues for philopatry in a paper wasp. *Ethology*, 111: 469-477.

- Sumner, S.; Pereboom, J. J. M. & Jordan, W. C. 2006. Differential gene expression and phenotypic plasticity in behavioural castes of the primitively eusocial wasp, *Polistes canadensis*. *Proceedings of the Royal Society of London B* 273: 19-26.
- Suryanarayanan, S. & Jeanne, R. L. 2008. Antennal drumming, trophallaxis, and colony development in the social wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology* 114: 1201-1209.
- Suryanarayanan, S.; Hantschel, A. E.; Torres, C. G. & Jeanne, R. L. 2011a. Changes in the temporal pattern of antennal drumming behavior across the *Polistes fuscatus* colony cycle (Hymenoptera: Vespidae). *Insectes Sociaux* 58: 97-106.
- Suryanarayanan, S.; Hermanson, J. C. & Jeanne, R. L. 2011b. A mechanical signal biases caste development in a social wasp. *Current Biology* 21: 231-235.
- Tannure-Nascimento, I. C., Nascimento, F. S. & Zucchi, R. 2005. Size and colony cycle in *Polistes satan*, a Neotropical paper wasp (Hymenoptera Vespidae). *Ethology Ecology & Evolution*, 17: 105-119.
- Tibbetts, E. A. 2006. Badges of status in worker and gyne *Polistes dominulus* wasps. *Annales Zoologici Fennici* 43: 575-582.
- Tibbetts, E. A. & Curtis, T. R. 2007. Rearing conditions influence quality signals but not individual identity signals in *Polistes* wasps. *Behavioral Ecology* 18: 602-607.
- Tindo, M.; Kenne, M.; Orivel, J. & Dejean, A. 2007. Morphological and physiological correlates of the colony foundation mode and reproductive role differentiation in *Belonogaster juncea juncea* (Vespidae, Polistinae). *Insectes Sociaux* 54: 154-157.
- Torres, V. O.; Montagna, T. S.; Fernandes, W.D. & Antonialli-Junior, W.F. 2011. Colony cycle of the social wasp *Mischocyttarus consimilis* Zikán (Hymenoptera: Vespidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 55: 247-252.

- Turillazzi, S. 1980. Seasonal variations in the size and anatomy of *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). *Monitore Zoologico Italiano - Italian Journal of Zoology* 14: 63-75.
- Turillazzi, S. 1991. The Stenogastrinae. In K.G. Ross & R.W. Matthews (editors), *The social biology of wasps*, pp. 74–98. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678p.
- Turillazzi, S. & Pardi, L. 1977. Body size and hierarchy in polygynic nests of *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). *Monitore Zoologico Italiano - Italian Journal of Zoology* 11: 101-112.
- van Doorn, A. & Heringa, J. 1986. The ontogeny of a dominance hierarchy in colonies of the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera, Apidae). *Insectes Sociaux*, 33: 3-25.
- Wenzel, J. W. 1992. Extreme queen-worker dimorphism in *Ropalidia ignobilis*, a small-colony wasp (Hymenoptera: Vespidae). *Insectes Sociaux* 39: 31-43.
- West-Eberhard, M. J. 1969. *The social biology of Polistine wasps*. Michigan, Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan, n° 140. 101pp.
- Wheeler, D. E. 1986. Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *The American Naturalist* 128: 13-34.
- Wilson, E. O. 1971. *The insect societies*. Cambridge, Belknap Press. 548pp.
- Winston, M. L. 1987. *The biology of the honey bee*. Cambridge, MA: Harvard University Press. 296pp.

Capítulo II

Análise comparativa do tamanho do corpo e fisiologia reprodutiva de fundadoras, operárias e gines na vespa social, *Mischocyttarus consimilis*

Análise comparativa do tamanho do corpo e fisiologia reprodutiva de fundadoras, operárias e gines na vespa social, *Mischocyttarus consimilis*

Resumo

A variação fenotípica compreende uma das principais forças evolutivas que permitiu a divisão de trabalho entre as castas nos insetos sociais. Entretanto, pouco é conhecido sobre os mecanismos que regulam a divisão de trabalho em colônias de vespas sociais de fundação independente em regiões tropicais. Nesse estudo foi investigado o grau de variação em traços morfofisiológicos entre fundadoras, operárias e gines da vespa social *Mischocyttarus consimilis*. Os resultados demonstram que o tamanho do corpo e o status reprodutivo variam entre as fundadoras adotando estratégias reprodutivas distintas. Fundadoras alfas em fundações pleométricas são significativamente maiores que as fundadoras auxiliares, entretanto, não diferem em tamanho das fundadoras solitárias. Fundadoras alfas apresentam maior desenvolvimento ovariano que as outras categorias de fundadoras, sugerindo que o grau de investimento ovariano está intimamente associado função reprodutiva. A análise morfométrica das fêmeas produzidas ao longo do ciclo colonial demonstrou que gines emergem com tamanho do corpo significativamente maior que os das operárias. Esses resultados sugerem, portanto, que a determinação de casta nessa espécie pode em parte ocorrer pré-imaginalmente e que o tamanho do corpo deve influenciar o desenvolvimento ovariano e decisões reprodutivas entre as fundadoras.

Palavras-chave: Hierarquia de dominância; Estratégia reprodutiva; Determinação de casta; Polistinae; Vespa neotropical.

Introdução

Vespas sociais de fundação independente constituem um importante modelo para testar hipóteses que envolvem as estratégias reprodutivas em insetos sociais menos derivados. Colônias de vespas sociais de fundação independente podem ser iniciadas de forma individual (haplometrose) ou em associação (pleometrose) (West-Eberhard, 1969; Gadagkar, 1991; Gunnels, 2007). Em haplometrose a única fundadora executa todas as tarefas relacionadas à construção, manutenção e defesa da colônia até a emergência das primeiras operárias (Gadagkar, 1991), enquanto que em pleometrose as tarefas coloniais são compartilhadas entre as fundadoras, entretanto, a função reprodutiva é monopolizada, em geral, pela fêmea mais dominante, a qual, por este motivo é denominada de fêmea alfa (Gadagkar, 1991). O estabelecimento da fêmea alfa nas fundações pleométricas envolve ovofagia diferencial e principalmente interações agressivas entre as postulantes (West-Eberhard, 1969; Litte, 1979; Gamboa & Stump, 1996; Savoyard & Gamboa, 1999; Dapporto *et al.*, 2010).

Estudos sugerem que diversos fatores podem influenciar a decisão da fundadora de iniciar uma colônia de forma individual ou em associação, incluindo fatores ambientais, genéticos ou morfofisiológicos (Sullivan & Strassmann, 1984; Gadagkar, 1991; Röseler, 1991; Zanette & Field, 2011). O tamanho do corpo, por exemplo, tem sido associado ao potencial de dominância, bem como tem influenciado decisões reprodutivas entre fundadoras de várias espécies de vespas sociais de fundação independente (Nonacs & Reeve, 1995; Queller *et al.*, 1997; Starks, 1998; Liebert *et al.*, 2005; Tannure-Nascimento *et al.*, 2005; Rusina *et al.*, 2007; Monnin *et al.*, 2009; Zanette & Field, 2009). O reconhecimento desses fatores, sobretudo, em vespas sociais menos-derivadas pode lançar luz principalmente sobre os atributos individuais que maximize as chances para a reprodução direta em espécies nas quais todas as fundadoras mantêm o potencial reprodutivo durante a vida adulta (Dropkin & Gamboa, 1981; Sullivan & Strassmann, 1984; Keeping, 2000; Gunnels, 2007).

Diversos autores sugerem que a divergência fenotípica baseada em ontogenia diferencial é a principal força evolutiva que permitiu a divisão de trabalho reprodutivo entre as castas nos insetos sociais (O'Donnell, 1998; Hunt, 2006; Hunt, 2012). Entretanto, em espécies menos-derivadas assim como vespas sociais de fundação independente, os fatores que afetam a determinação de casta são, em parte, controversos ou pouco conhecidos. Por exemplo, tem se argumentado que o fenótipo diferenciado entre rainhas e operárias de vespas sociais em polistine é definido durante a vida adulta (Gadgil & Mahabal, 1974; Mead & Gabouriaut, 1993). Entretanto, evidências recentes têm demonstrado que atributos fenotípicos diferenciados entre essas castas podem ser em parte determinados em um estágio pré-adulto (Keeping, 2002; Tibbetts, 2006; Tibbetts & Izzo, 2009; Dapporto *et al.*, 2011; Tibbetts *et al.*, 2011a; Hunt, 2012), apontando para a possibilidade de que a determinação de castas pré-imaginal pode de fato ocorrer em vespas sociais menos-derivadas (Hunt, 1991; O' Donnell, 1998).

Por exemplo, foi demonstrado para a vespa social de fundação independente *Ropalidia marginata*, que o aumento na qualidade nutricional larval promove maior desenvolvimento ovariano no estágio adulto (Gadagkar *et al.*, 1988; Gadagkar *et al.*, 1990; Gadagkar *et al.*, 1991). Em adição, Judd *et al.*, (2010) demonstraram que larvas de operárias e gines de *Polistes metricus* apresentam diferenças significativas nos níveis de nutrientes presentes na hemolinfa, assim como lipídios, carboidratos e proteínas, e essas diferenças foram associadas a uma possível alimentação larval diferenciada entre essas castas. Essas evidências somadas apontam para a existência de um mecanismo comum de determinação de casta pré-imaginal em vespas sociais menos derivadas, o qual pode ter sido selecionado ao longo da evolução do táxon (O' Donnell, 1998; Hunt, 2006).

Ambientes tropicais fornecem excelentes condições para testar esta hipótese, uma vez que as condições climáticas nesses locais são mais estáveis ao longo do ano. Em condições

tropicais colônias de vespas sociais podem ser fundadas durante todo o ano, porque as variáveis climáticas não impõem restrições ao desenvolvimento das colônias (Giannotti, 1998; Torres *et al.*, 2011). A possibilidade de coletar indivíduos emergindo simultaneamente em diferentes estágios coloniais e sob as mesmas condições climáticas é uma vantagem, portanto, que estes ambientes fornecem para testar modelos de determinação de casta em vespas sociais menos derivadas ocorrendo em regiões tropicais.

Mischocyttarus consimilis é uma vespa social de fundação independente e que segue um ciclo colonial assincrônico (Richards, 1978, Torres *et al.*, 2011). Colônias desta espécie são fundadas durante todo o ano e seus ninhos são compostos por um único favo descoberto que se prende ao substrato por um único pedúnculo centralizado (Montagna *et al.*, 2010). Nesse estudo foi investigado o grau de variação em traços morfofisiológicos entre fundadoras, operárias e gines da vespa social de fundação independente *M. consimilis*.

Materiais & Métodos

Procedimentos de campo e coleta de dados

Todas as colônias de *M. consimilis* utilizadas nesse estudo foram amostradas no município de Dourados (22°13'16''S; 54°48'20''W) no estado de Mato Grosso do Sul, durante o período de Março de 2011 a Fevereiro de 2012. Essas colônias foram localizadas principalmente em beirais de construções humanas. Todos os indivíduos coletados foram eutanasiados (submetidas ao congelamento por aproximadamente 30 minutos) antes de qualquer procedimento de manipulação.

Diferenças no tamanho do corpo e grau de desenvolvimento ovariano foram avaliados para um total de 57 fundadoras, provenientes de 29 fundações (i.e. ausência de mecônio nas células do favo), sendo 16 fundadas por pleometrose e 13 por haplometrose. Para essa análise

foram coletadas somente fundações pleométricas, nas quais a fundadora alfa havia sido estabelecida.

A identificação da fêmea alfa em fundações pleométricas foi feita por observação direta do comportamento de ovipostura. Para promover o comportamento de ovipostura pela fêmea alfa foi oferecida uma célula vazia no favo, a partir da remoção de uma larva, utilizando uma pinça. Desta maneira foi possível categorizar cada fundadora em: fundadora alfa (fêmea que exerce a função reprodutiva em fundação pleométrica); fundadora auxiliar (qualquer fêmea subordinada à fundadora alfa em fundação pleométrica) e fundadora solitária (fêmea de fundação haplométrica), conforme as definições de Gunnels (2007).

Diferença no tamanho do corpo foi avaliada para um total de 90 fêmeas recém-emergidas (<24 horas de idade), provenientes de 47 colônias em estágio de pós-emergência. Cada fêmea coletada foi categorizada de acordo com o período colonial em que emergiu, sendo assim, operária primária (fêmea que emergiu na fase inicial da pós-emergência e que foi alimentada somente pelas fundadoras), operária pós-primária (fêmea que emergiu na fase ergonômica da pós-emergência e que foi alimentada pelas fundadoras e operárias) e gyne (fêmea que emergiu na fase reprodutiva), conforme as definições de Keeping (2002). O período de produção de gines em colônias de *M. consimilis* ocorre na parte final da pós-emergência, tão logo antes do início do declínio (Torres *et al.*, 2011).

De cada fêmea amostrada foram tomadas as medidas de nove variáveis morfométricas, segundo Gunnels (2007): altura da cabeça, distância máxima entre as margens internas dos olhos, distância mínima entre as margens internas dos olhos, comprimento do mesonotum, largura do mesonotum, comprimento do tórax, altura da mesopleura, comprimento da tíbia e comprimento da asa anterior. O grau de desenvolvimento ovariano foi determinado utilizando o comprimento médio dos seis maiores ovócitos presente nos ovários (Cervo & Lorenzi, 1996; Sledge *et al.*, 2004). Todas as análises morfofisiológicas foram realizadas com auxílio

de um estereomicroscópio Zeiss Stemi 2000C adaptado com uma ocular micrométrica (Carl Zeiss Microscopy, Oberkochen, Germany).

Análise estatística

Foi utilizado modelo linear geral para testar as diferenças no tamanho do corpo e grau de desenvolvimento ovariano entre as diferentes categorias de fundadoras e fêmeas emergidas em diferentes estágios do ciclo colonial. As nove variáveis morfométricas mensuradas foram submetidas a uma análise de componentes principal (PCA) e o primeiro componente principal foi utilizado como índice de tamanho do corpo (Keeping, 2000; Gunnels, 2007; Shukla *et al.*, 2013). Diferenças no tamanho do corpo entre as categorias de fundadoras e fêmeas produzidas foram avaliadas utilizando análise de variância (ANOVA) e Tukey's test (HSD) para comparações múltiplas.

Os dados de desenvolvimento ovariano de fundadoras apresentaram distribuição não-normal (Shapiro-Wilk test; $P > 0,05$) e diferenças entre as categorias foram avaliadas utilizando análise de variância de Kruskal-Wallis e Steel-Dwass test para comparações múltiplas. Para todas as análises a variável foi considerada ao nível de significância de 0,05. Todas as análises estatísticas foram executadas utilizando o software estatístico R (www.r-project.org).

Resultados

A análise de componentes principais (PCA) com as nove variáveis morfométricas mensuradas para as três categorias de fundadoras produziu o primeiro componente principal (índice de tamanho do corpo) que explicou 83,0% da variância dos dados e que foi positivamente associado a todas as variáveis mensuradas. A análise de variância demonstrou que as três categorias de fundadoras diferem quanto ao tamanho do corpo (One-way

ANOVA; $F_{2-54}=8,77$; $P<0,001$; Fig. 01). A análise testando para diferenças entre os grupos demonstra que as fundadoras alfas em fundações pleométricas são significativamente maiores que as fundadoras auxiliares (Tukey's HSD; $P<0,01$; Fig. 01), entretanto, não diferem de tamanho das fundadoras solitárias ($P=0,77$; Fig. 01). Além disso, fundadoras solitárias foram significativamente maiores que as fundadoras auxiliares de fundações pleométricas ($P<0,01$; Fig. 01).

As três categorias de fundadoras também diferem significativamente quanto ao grau de desenvolvimento ovariano (Kruskal-Wallis; $H=38,20$; $df=2$; $P<0,001$; Fig. 02). A análise entre os grupos demonstra que fundadoras alfas apresentam maior desenvolvimento ovariano que ambas as fundadoras auxiliares (Stell-Dwass; $P<0,001$; Fig. 02) e fundadoras solitárias ($P=0,01$; Fig. 02). Além disso, fundadoras solitárias apresentam maior desenvolvimento ovariano que fundadoras auxiliares ($P<0,001$; Fig. 02). Houve uma correlação positiva entre o índice de tamanho do corpo e o grau de desenvolvimento ovariano entre todas as fundadoras amostradas (Coeficiente de correlação de Pearson; $r=0,41$; $P<0,01$; $n=59$; Fig. 03).

A PCA considerando as nove variáveis morfométricas para as três categorias de fêmeas recém-emergidas produziu o primeiro componente principal que foi positivamente associado a todas as variáveis, bem como explicou 75,8% da variância total dos dados. A análise de variância utilizando o primeiro componente principal como a variável explanatória demonstrou que as três diferentes categorias de fêmeas diferem significativamente no tamanho do corpo (One-way ANOVA; $F_{2-87}=6,86$; $P<0,01$; Fig. 04). A análise comparando os grupos demonstra que as gines são significativamente maiores que as operárias primárias (Tukey's HSD; $P<0,01$; Fig. 04) e as operárias pós-primárias ($P=0,02$; Fig. 04). Entretanto, o tamanho do corpo das operárias primárias e pós-primárias não difere significativamente ($P=0,79$; Fig. 04).

Discussão

Os resultados desse estudo demonstram que as fundadoras alfas são significativamente maiores que as fundadoras auxiliares em fundações pleométricas. Em várias espécies de vespas sociais de fundação independente, o tamanho do corpo está associado ao status reprodutivo, especialmente nas fundações pleométricas, quando uma hierarquia de dominância é formada entre as fundadoras (Sullivan & Strassmann, 1984; Röseler *et al.*, 1985; Tindo & Dejean, 2000). Nessas espécies, fundadoras maiores apresentam um alto índice de dominância e, na maioria dos casos, assumem a posição mais alta na hierarquia reprodutiva (Turillazzi & Pardi, 1977; Cervo *et al.*, 2008). Dessa forma, fundadoras maiores que ocupam posições mais elevadas na hierarquia reprodutiva, têm maior acesso à comida trazida pelas forrageadoras, executa tarefas de menor gasto energético e investe mais na reprodução direta, enquanto que, fundadora subordinada comporta-se como uma casta operária e pouco investe na reprodução direta (Tibbetts & Izzo, 2009; Tibbetts *et al.*, 2011b).

Foi observado, ainda, que fundadoras solitárias não diferem em tamanho das fundadoras alfas. Em um estudo com essa mesma espécie Torres *et al.* (2011) demonstraram que a taxa de sucesso das fundações solitárias é menor que aquelas das fundações pleométricas, entretanto, a fundação solitária é a estratégia mais comum entre as fundadoras. Esses dados sugerem que a fundação solitária nessa espécie pode ser a estratégia alternativa adotada pelas fundadoras grandes que abdicaram de disputar a reprodução direta nas fundações pleométricas. Resultados semelhantes com vespas do gênero *Polistes* de região temperada suportam essa hipótese. Por exemplo, Tibbetts & Reeve (2008) avaliando a dinâmica de agressão intra-grupo durante o período de fundação de colônia em *Polistes dominulus* demonstraram que os confrontos entre fêmeas alfas e betas diminuem quando há uma oportunidade de nidificação solitária para a fêmea beta.

Fundadoras alfas apresentaram desenvolvimento ovariano maior que os das auxiliares em fundações pleométricas, enquanto que, fundadoras solitárias apresentaram desenvolvimento ovariano intermediário entre fundadoras alfas e auxiliares. Esses dados sugerem que o grau de desenvolvimento ovariano nessa espécie está intimamente associado à função desempenhada pela fundadora. Fundadoras alfas e solitárias exercem prioritariamente a função reprodutiva, e essa condição exige um maior investimento em desenvolvimento ovariano. Entretanto, fundadoras solitárias exercem desde a fundação da colônia até a emergência das primeiras operárias, as tarefas extra-ninho e seu menor desenvolvimento ovariano quando comparado às fundadoras alfas, pode ser em parte explicado pelo investimento energético nessas atividades. Fundadoras auxiliares nas fundações pleométricas comportam-se como uma casta operária, e dessa forma, tem pouco incentivo para investir em desenvolvimento ovariano (Turillazzi & Pardi, 1977; Röseler, 1991). Resultado semelhante foi encontrado por Keeping (2000) para a vespa social de fundação independente *Belonogaster petiolata*.

Fundadoras maiores, que ocupam uma posição elevada na hierarquia de dominância, são conhecidas por apresentar desenvolvimento ovariano superior aos de suas subordinadas (Pardi, 1948; West-Eberhard, 1967). Em *M. consimilis* existe uma associação significativa positiva entre o tamanho do corpo e o desenvolvimento ovariano entre as fundadoras adotando estratégias distintas. Esses dados sugerem que o investimento em desenvolvimento ovariano nessa espécie pode estar intimamente associado ao tamanho do corpo. Esse resultado corrobora os de outros estudos realizados com vespas sociais de fundação independente do gênero *Polistes* (Strassmann, 1983; Tannure-Nascimento *et al.*, 2005), *Ropalidia* (Fukuda *et al.*, 2003) e *Belonogaster* (Keeping, 2000).

Foi demonstrado ainda que gines em *M. consimilis* emergem com maior tamanho do corpo que ambas as operárias primárias e operárias pós-primárias. Similarmente, diferenças

morfométricas entre operárias e gines foram descritas para outros táxons de vespas sociais de fundação independente em Polistinae (Eickwort, 1969; Haggard & Gamboa, 1980; Dani, 1994; Turillazzi *et al.*, 1994; Keeping, 2002). A distinção morfológica entre essas castas é uma das principais forças evolutivas que permitiu a divisão de trabalho reprodutivo em colônias de insetos sociais. Variação morfométricas entre castas em diferentes espécies de vespas sociais de fundação independente, reforça a possibilidade de um mecanismo comum de determinação de casta pré-imaginal nesse táxon (O' Donnell, 1998). Além disso, esses resultados sugerem que a expressão diferencial do fenótipo nesses táxons pode envolver mecanismos pré-imaginais ainda desconhecidos.

Portanto esses resultados sugerem que fatores pré-imaginais devem influenciar a expressão diferencial de características morfofisiológicas e comportamentais em vespas sociais menos-derivada. Embora, a alimentação diferencial pré-imaginal seja conhecida por influenciar a expressão diferencial do fenótipo em insetos sociais mais derivados, incluindo abelhas melíferas e vespas vespines (Haydak, 1943; Winston, 1987; Schmidt *et al.*, 2012), seus efeitos em grupos menos derivados são menos conclusivos. Em vespas sociais de fundação independente, uma análise das diferenças fenotípicas entre castas sob a perspectiva nutricional pré-imaginal, tem sido realizada de forma especulativa (Eickwort, 1969; Haggard & Gamboa, 1980; Grechka & Kipyatkov, 1983; Miyano, 1998; Karsai & Hunt, 2002; Judd *et al.*, 2010). Por exemplo, Pardi & Marino-Picciolo (1981) demonstraram que o aumento na qualidade nutricional de larvas em *Belonogaster griseus* conduziu ao desenvolvimento de fêmeas adultas relativamente maiores e que foram potencialmente mais férteis. Da mesma forma, Karsai & Hunt (2002) observaram que as larvas de *Polistes metricus* que foram submetidas a uma alimentação de melhor qualidade emergiram maiores, bem como, apresentaram na fase adulta maior proporção de corpo gorduroso, parâmetro esse utilizado

para diferenciar castas em vespas sociais de fundação independente em regiões temperadas (Eickwort, 1969; Toth *et al.*, 2009).

Hipóteses recentes sugerem que o desenvolvimento das fêmeas em colônias de insetos sociais menos-derivados pode ser controlado pelos adultos por mecanismos que envolvem estresse mecânico (Jeanne & Suryanarayanan, 2011; Suryanarayanan *et al.*, 2011a; Suryanarayanan *et al.*, 2011b). Por exemplo, Suryanarayanan *et al.*, (2011a) demonstraram que larvas de *Polistes fuscatus* desenvolvendo-se em colônias em estágios iniciais experimentam altos níveis de antenação em comparação às larvas que se desenvolvem em colônias maduras. O comportamento de antenação é executado contra as paredes das células ocupadas por larvas e produz um barulho audível, funcionando como um mecanismo para a promoção de estresse, sendo que, larvas submetidas a altos níveis deste tipo de interferência durante seu desenvolvimento, emergem com fenótipo típico de operárias, enquanto que larvas que experimentam baixos níveis, emergem com fenótipo típico de gines (Suryanarayanan & Jeanne, 2008; Suryanarayanan *et al.*, 2011b). Estudos futuros poderiam indicar se o mecanismo de manipulação do fenótipo por interferência mecânica, está presente em outras espécies de vespas sociais menos-derivada, incluindo *M. consimilis*.

Resultados de estudos prévios sugerem que tanto fatores nutricionais quanto mecânicos-estressores podem desencadear processos fisiológicos que envolvem mudanças nos títulos de hormônios controladores da determinação de casta, em especial o hormônio juvenil (HJ), conduzindo para uma resposta epigenética envolvendo a expressão diferencial de genes entre larvas de operárias e gines (Toth *et al.*, 2007; Judd *et al.*, 2010; Suryanarayanan *et al.*, 2011b). Em vespas sociais menos-derivadas, os efeitos do HJ na determinação de casta pré-imaginal são poucos conhecidos, entretanto, alguns autores especulam que possa existir de forma similar aos táxons mais-derivados (Tibbetts, 2006; Hunt *et al.*, 2007; Hunt *et al.*, 2010). Entretanto, estudos futuros são necessários para esclarecer se diferenças morfológicas

entre as castas em vespas sociais menos derivadas são controlados por mecanismos fisiológicos que envolvem variações nos títulos de HJ em estágio pré-adulto (Hunt *et al.*, 1996; Jeanne, 1996; Hunt *et al.*, 2001).

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor. Ao FUNDECT pelo apoio financeiro (Proc. nº 23/200.767/2012). WFAJ agradece ao CNPq pela bolsa produtividade.

Referências

- Cervo, R. & Lorenzi, M. C. 1996. Behaviour in usurpers and late joiners of *Polistes biglumis bimaculatus* (Hymenoptera: Vespidae). *Insectes Sociaux* 43: 255-266.
- Cervo, R.; Dapporto, L.; Beani, L.; Strassmann, J. E. & Turillazzi, S. 2008. On status badges and quality signals in the paper wasp *Polistes dominulus*: body size, facial colour patterns and hierarchical rank. *Proceedings of the Royal Society of London B* 275: 1189-1196.
- Dani, F. R. 1994. Caste size differences in *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology Ecology & Evolution, Special Issue* 3: 67-73.
- Dapporto, L.; Bruschini, C.; Cervo, R.; Petrocelli, I. & Turillazzi, S. 2010. Hydrocarbon rank signatures correlate with differential oophagy and dominance behaviour in *Polistes dominulus* foundresses. *The Journal of Experimental Biology* 213: 453-458.
- Dapporto, L.; Petrocelli, I. & Turillazzi, S. 2011. Incipient morphological castes in *Polistes gallicus* (Vespidae, Hymenoptera). *Zoomorphology* 130: 197-201.

- Dropkin, J. A. & Gamboa, G. J. 1981. Physical comparisons of foundresses of the paper wasp, *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *The Canadian Entomologist* 113: 457-461.
- Eickwort, K. 1969. Separation of the castes of *Polistes exclamans* and notes on its biology (Hym.: Vespidae). *Insectes Sociaux* 16: 67-72.
- Fukuda, H.; Kojima, J. Tsuchida, K. & Saito, F. 2003. Size-dependent reproductive dominance in foundresses of *Ropalidia plebeiana*, an Australian paper wasp forming nest aggregations (Hymenoptera: Vespidae). *Entomological Science* 6: 217-222.
- Gadagkar, R.; Vinutha, C.; Shanubhogue, A. & Gore, A. P. 1988. Pre-imaginal biasing of caste in a primitively eusocial insect. *Proceedings of the Royal Society of London B* 233: 175-189.
- Gadagkar, R.; Bhagavan, S.; Malpe, R. & Vinutha, C. 1990. On reconfirming the evidence for pre-imaginal caste bias in a primitively eusocial wasp. *Proceedings of the Indian Academy of Science B* 99: 141-150.
- Gadagkar, R.; Bhagavan, S.; Chandrashekara, K. & Vinutha, C. 1991. The role of larval nutrition in pre-imaginal biasing of caste in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata* (Hymenoptera, Vespidae). *Ecological Entomology* 16: 435-440.
- Gadagkar, R. 1991. *Belonogaster*, *Mischocyttarus*, *Parapolybia*, and independent founding *Ropalidia*. In K.G. Ross & R.W. Matthews (editores). *The social biology of wasps*. pp. 149-190. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678pp.
- Gadgil, M. & Mahabal, A. 1974. Caste differentiation in the paper wasp *Ropalidia marginata* (Lep.). *Current Science* 43: 482.
- Gamboa, G. J. & Stump, K. A. 1996. The timing of conflict and cooperation among cofoundresses of the social wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae). *Canadian Journal of Zoology* 74: 70-74.

- Giannotti, E. 1998. The colony cycle of the social wasp, *Mischocyttarus cerberus styx* Richards, 1940 (Hymenoptera, Vespidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 41: 217-224.
- Grechka, E. O. & Kipyatkov, V. Y. 1983. Seasonal developmental cycle and caste differentiation in the social wasp, *Polistes gallicus* L. (Hymenoptera: Vespidae). I. Phenology and life cycle regulation. *Entomological Review* 62: 19-31.
- Gunnels, C. W. 2007. Seasonally variable eusocially selected traits in the paper wasp, *Mischocyttarus mexicanus*. *Ethology* 113: 648-660.
- Haggard, C. M. & Gamboa, G. J. 1980. Seasonal variation in body size and reproductive condition of a paper wasp, *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *The Canadian Entomologist* 112: 239-248.
- Haydak, M. H. 1943. Larval food and the development of castes in honeybee. *Journal of Economic Entomology* 36: 778-792.
- Hunt, J. H. 1991. Nourishment and the evolution of the social Vespidae. In Ross, K. G. & Matthews, R. W. (editores). *The social biology of wasps*. pp. 426-450. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678pp.
- Hunt, J. H. 2006. Evolution of caste in *Polistes*. *Annales Zoologici Fennici* 43: 407-422.
- Hunt, J. H. 2012. A conceptual model for the origin of worker behaviour and adaptation of eusociality. *Journal of Evolutionary Biology* 25: 1-19.
- Hunt, J. H.; Kensinger, B. J.; Kossuth, J. A.; Henshaw, M. T.; Norberg, K.; Wolschin, F. & Amdam, G. V. 2007. A diapause pathway underlies the gyne phenotype in *Polistes* wasps, revealing an evolutionary route to caste-containing insect societies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 104: 14020-14025.

- Hunt, J. H.; Wolschin, F.; Henshaw, M. T.; Newman, T. C.; Toth, A. L. & Amdam, G. V. 2010. Differential gene expression and protein abundance evince ontogenetic bias toward castes in a primitively eusocial wasp. *PLoS ONE* 5: e10674.
- Jeanne, R. L. & Suryanarayanan, S. 2011. A new model for caste development in social wasps. *Communicative & Integrative Biology* 4: 373-377.
- Judd, T. M.; Magnus, R. M. & Fasnacht, M. P. 2010. A nutritional profile of the social wasp *Polistes metricus*: differences in nutrient levels between castes and changes within castes during the annual life cycle. *Journal of Insect Physiology* 56: 42-56.
- Karsai, I. & Hunt, J. H. 2002. Food quantity affects traits of offspring in the paper wasp *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *Environmental Entomology* 31: 99-106.
- Keeping, M. G. 2000. Morpho-physiological variability and differentiation of reproductive roles among foundresses of the primitively eusocial wasp, *Belonogaster petiolata* (Degeer) (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Sociaux* 47: 147-154.
- Keeping, M. G. 2002. Reproductive and worker castes in the primitively eusocial wasp *Belonogaster petiolata* (DeGeer) (Hymenoptera: Vespidae): evidence for pre-imaginal differentiation. *Journal of Insect Physiology* 48: 867-879.
- Liebert, A. E.; Nonacs, P. & Wayne, R. K. 2005. Solitary nesting and reproductive success in the paper wasp *Polistes aurifer*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 57: 445-456.
- Litte, M. 1979. *Mischocyttarus flavitarsis* in Arizona: social and nesting biology of a polistine wasp. *Zeitschrift für Tierpsychologie* 50: 282-312.
- Mead, F. & Gabouriaut, D. 1993. Post-eclosion sensitivity to social context in *Polistes dominulus* Christ females (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Sociaux* 40: 11-20.
- Miyano, S. 1998. Amount of flesh food influences the number, larval duration, and body size of first brood workers, in a Japanese paper wasp, *Polistes chinensis antennalis* (Hymenoptera : Vespidae). *Entomological Science* 1: 545-549.

- Monnin, T.; Cini, A.; Lecat, V. ; Fédérici, P. & Doums, C. 2009. No actual conflict over colony inheritance despite high potential conflict in the social wasp *Polistes dominulus*. *Proceedings of the Royal Society B* 276: 1593-1601.
- Montagna, T. S., Torres, V. O. Fernandes, W. D. & Antonialli-Junior, W. F. 2010. Nest architecture, colony productivity, and duration of immature stages in a social wasp, *Mischocyttarus consimilis*. *Journal of Insect Science* 10: 191.
- Nonacs, P. & Reeve, H. K. 1995. The ecology of cooperation in wasps: causes and consequences of alternative reproductive decisions. *Ecology* 76: 953-967.
- O' Donnell, S. 1998. Reproductive caste determination in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Annual Reviews of Entomology* 43: 323-446.
- Pardi, L. 1948. Dominance order in *Polistes* wasps. *Physiological Zoology* 21: 1-13.
- Pardi, L. & Marino-Piccioli, M. T. 1981. Studies on the biology of *Belonogaster* (Hymenoptera: Vespidae). *Monitore Zoologico Italiano* 14: 131-146.
- Queller, D. C.; Peters, J. M.; Solís, C. R. & Strassmann, J. E. 1997. Control of reproduction in social insect colonies: individual and collective relatedness preferences in the paper wasp, *Polistes annularis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 40: 3-16.
- Richards, O. W. 1978. *The social wasps of the Americas excluding the Vespinae*. London, British Museum (Natural History). 580pp.
- Röseler, P-F.; Röseler, I. & Strambi, A. 1985. Role of ovaries and ecdysteroids in dominance hierarchy establishment among foundresses of the primitively social wasp, *Polistes gallicus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 18: 9-13.
- Röseler, P-F. 1991. Reproductive competition during colony establishment. In Ross, K. G. & Matthews, R. W. (editores). *The social biology of wasps*. pp. 309-335. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678pp.

- Rusina, L. Yu.; Rusin, I. Yu.; Starr, C. K.; Fateryga, A. B. & Firman, L. A. 2007. Modes of colony foundation by females of different morphotypes in the paper wasps (Hymenoptera, Vespidae, *Polistes* Latr.). *Entomological Review* 87: 1155-1173.
- Savoyard, J. L. & Gamboa, G. J. 1999. Cofoundress value as a predictor of the timing of conflict in the social wasp, *Polistes fuscatus* (Hymenoptera, Vespidae). *Ethology Ecology & Evolution* 11: 77-83.
- Shukla, S.; Chandran, S. & Gadagkar, R. 2013. Ovarian developmental variation in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata* suggests a gateway to worker ontogeny and the evolution of sociality. *The Journal of Experimental Biology* 216: 181-187.
- Schmidt, K. C.; Hunt, B. G. & Smith, C. R. 2012. Queen, worker, and male yellowjacket wasps receive different nutrition during development. *Insectes Sociaux* 59: 289-295.
- Sledge, M. F.; Trinca, I.; Massolo, A.; Boscaro, F. & Turillazzi, S. 2004. Variation in cuticular hydrocarbon signatures, hormonal correlates and establishment of reproductive dominance in a polistine wasp. *Journal of Insect Physiology* 50: 73-83.
- Starks, P. T. 1998. A novel 'sit and wait' reproductive strategy in social wasps. *Proceedings of the Royal Society B* 265: 1407-1410.
- Strassmann, J. E. 1983. Nest fidelity and group size among foundresses of *Polistes annularis* (Hymenoptera: Vespidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 56: 621-634.
- Sullivan, J. D. & Strassmann, J. E. 1984. Physical variability among nest foundresses in the polygynous social wasp, *Polistes annularis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 15: 249-256.
- Suryanarayanan, S. & Jeanne, R. L. 2008. Antennal drumming, trophallaxis, and colony development in the social wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology* 114: 1201-1209.

- Suryanarayanan, S.; Hantschel, A. E.; Torres, C. G. & Jeanne, R. L. 2011a. Changes in the temporal pattern of antennal drumming behavior across the *Polistes fuscatus* colony cycle (Hymenoptera: Vespidae). *Insectes Sociaux* 58: 97-106.
- Suryanarayanan, S.; Hermanson, J. C. & Jeanne, R. L. 2011b. A mechanical signal biases caste development in a social wasp. *Current Biology* 21: 231-235.
- Tannure-Nascimento, I. C.; Nascimento, F. S. & Zucchi, R. 2005. Size and colony cycle in *Polistes satan*, a Neotropical paper wasp (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology Ecology & Evolution* 17: 105-119.
- Tibbetts, E. A. 2006. Badges of status in worker and gyne *Polistes dominulus* wasps. *Annales Zoologici Fennici* 43: 575-582.
- Tibbetts, E. A. & Reeve, H. K. 2008. Two experimental tests of the relationship between group stability and aggressive conflict in *Polistes* wasps. *Naturwissenschaften* 95: 383-389.
- Tibbetts, E. A. & Izzo, A. S. 2009. Endocrine mediated phenotypic plasticity: condition-dependent effects of juvenile hormone on dominance and fertility of wasp queens. *Hormones and Behavior* 56: 527-531.
- Tibbetts, E. A.; Levy, S. & Donajkowski, K. 2011a. Reproductive plasticity in *Polistes* paper wasp workers and the evolutionary origins of sociality. *Journal of Insect Physiology* 57: 995-999.
- Tibbetts, E. A.; Izzo, A. S. & Huang, Z. Y. 2011b. Behavioral and physiological factors associated with juvenile hormone in *Polistes* wasp foundresses. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 65: 1123-1131.
- Tindo, M. & Dejean, A. 2000. Dominance hierarchy in colonies of *Belonogaster juncea juncea* (Vespidae: Polistinae). *Insectes Sociaux* 47: 158-163.

- Torres, V. O.; Montagna, T. S.; Fernandes, W.D. & Antonialli-Junior, W.F. 2011. Colony cycle of the social wasp *Mischocyttarus consimilis* Zikán (Hymenoptera, Vespidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 55: 247-252.
- Toth, A. L.; Varala, K.; Newman, T. C.; Miguez, F. E.; Hutchison, S. K.; Willoughby, D. A.; Simons, J. F.; Egholm, M.; Hunt, J. H.; Hudson, M. E. & Robinson, G. E. 2007. Wasp gene expression supports an evolutionary link between maternal behavior and eusociality. *Science* 318: 441-444.
- Toth, A. L.; Bilof, K. B. J.; Henshaw, M. T.; Hunt, J. H. & Robinson, G. E. 2009. Lipid stores, ovary development, and brain gene expression in *Polistes metricus* females. *Insectes Sociaux* 56: 77-84.
- Turillazzi, S. & Pardi, L. 1977. Body size and hierarchy in polygynic nests of *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). *Monitore Zoologico Italiano - Italian Journal of Zoology* 11: 101-112.
- Turillazzi, S.; Francescato, E.; Baldini-Tosi, A. & Carpenter, J. M. 1994. A distinct caste difference in *Polybioides tabidus* (Fabricius) (Hymenoptera: Vespidae). *Insectes Sociaux* 41: 327-330.
- West-Eberhard, M. J. 1967. Foundress associations in Polistine wasps: dominance hierarchies and the evolution of social behavior. *Science* 157: 1584-1585.
- West-Eberhard, M. J. 1969. The social biology of Polistine wasps. Michigan, Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan, n° 140. 101pp.
- Winston, M. L. 1987. The biology of the honey bee. Cambridge, MA: Harvard University Press. 296pp.
- Zanette, L. & Field, J. 2009. Cues, concessions, and inheritance: dominance hierarchies in the paper wasp *Polistes dominulus*. *Behavioral Ecology* 20: 773-780.

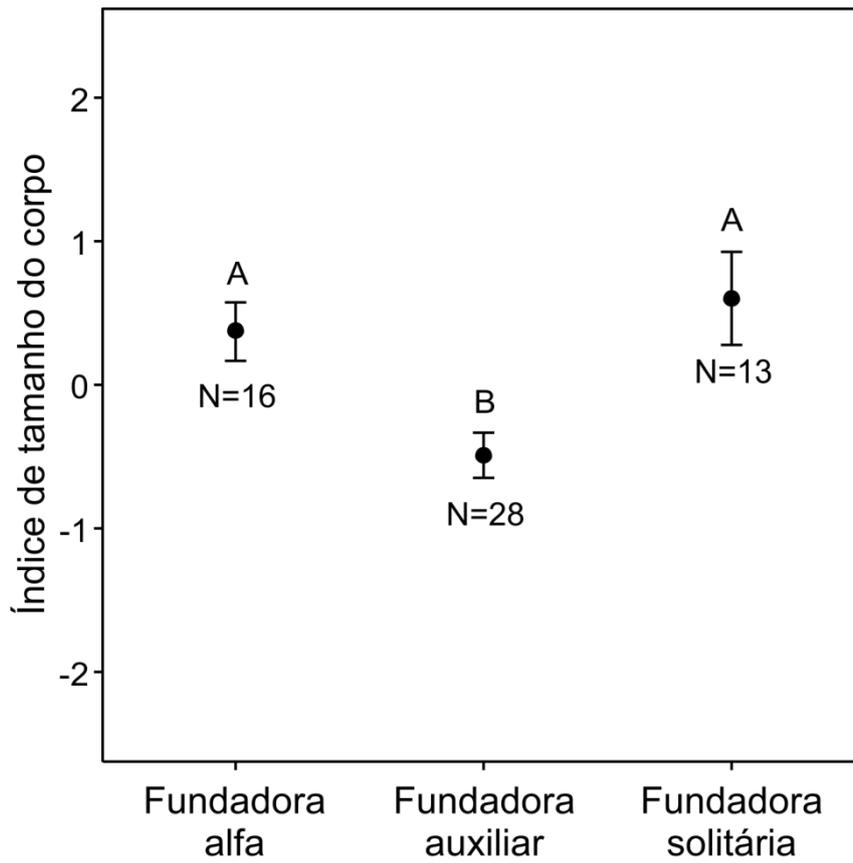


Fig. 01. Índice de tamanho do corpo (média±DP) para as três categorias de fundadoras em *Mischocyttarus consimilis*, baseado em nove variáveis morfométricas. Letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

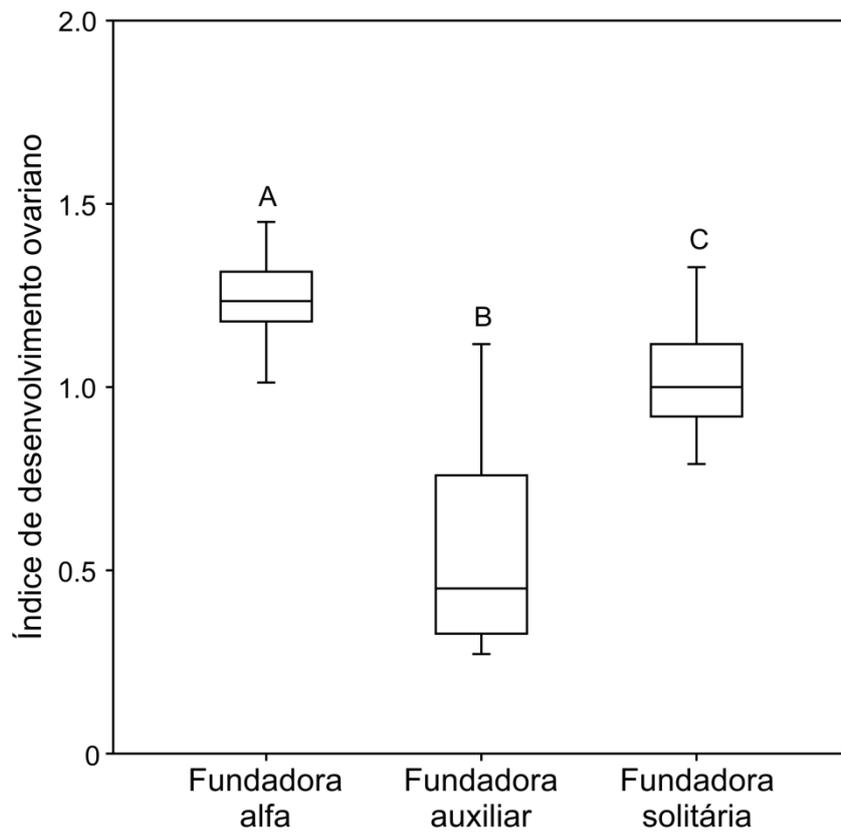


Fig. 02. Índice de desenvolvimento ovariano para as três categorias de fundadoras em *Mischocyttarus consimilis*. *Box-plot* representa a mediana, 25-75% percentis e intervalo mínimo/máximo. Letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

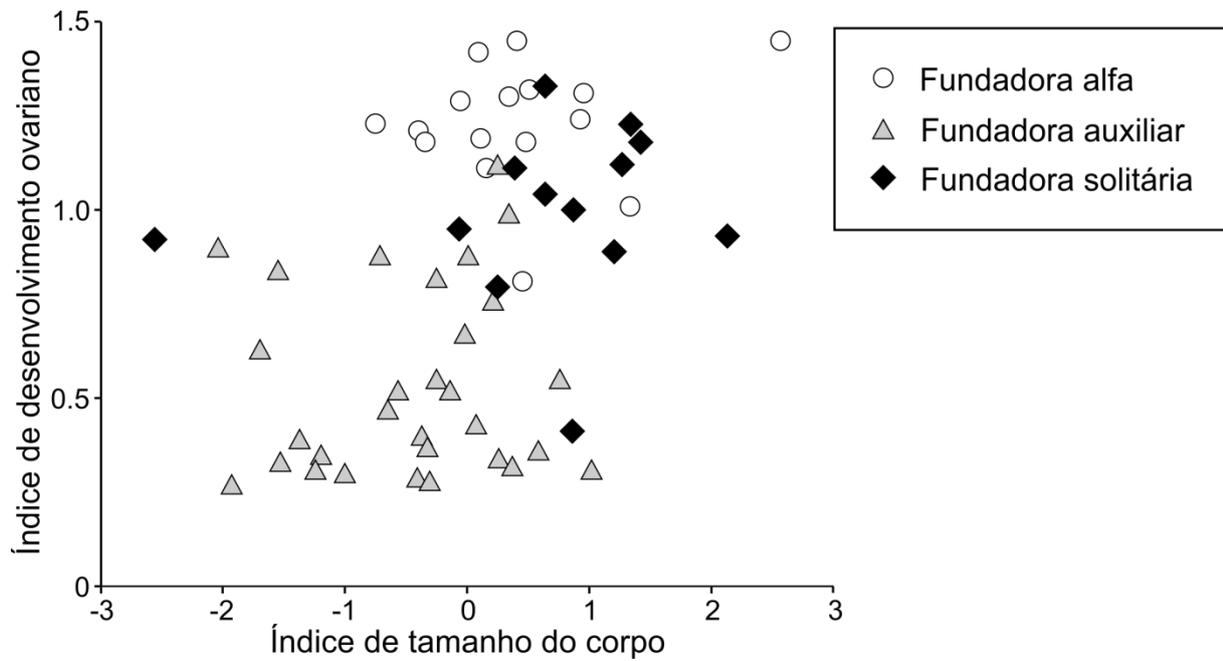


Fig. 03. Correlação entre o índice de tamanho do corpo e índice de desenvolvimento ovariano para as três categorias de fundadoras em *Mischocyttarus consimilis* ($r=0,41$; $P<0,01$).

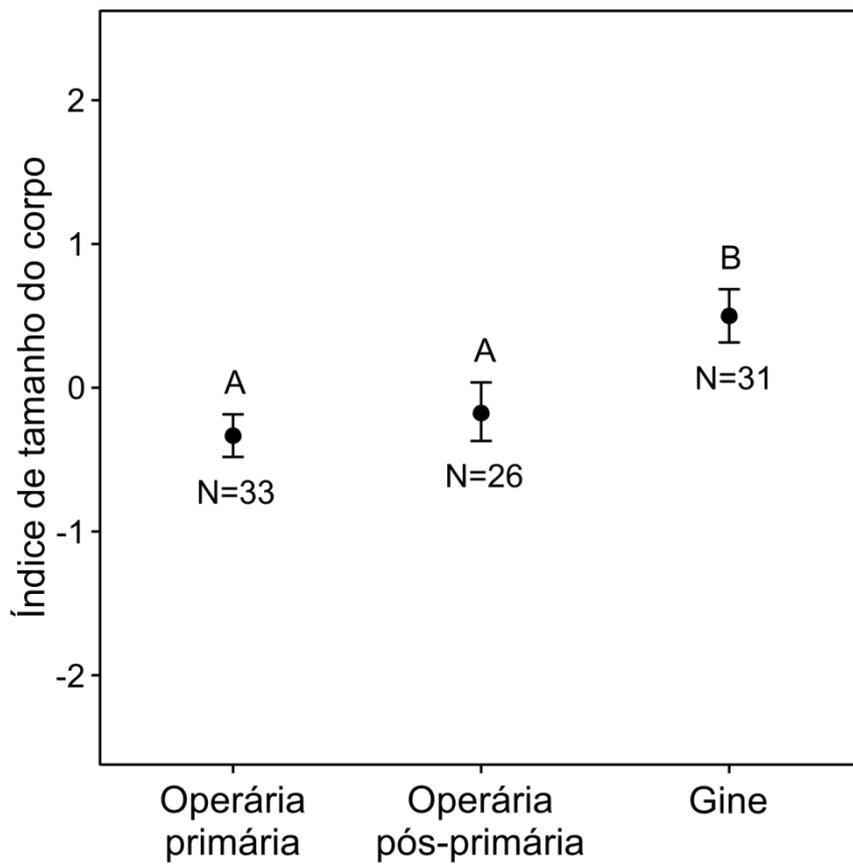


Fig. 04. Índice de tamanho do corpo (média±DP) para as três categorias de fêmeas recém-emergidas em *Mischocyttarus consimilis*, baseado em nove variáveis morfométricas. Letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Capítulo III

Efeito da aplicação tópica pré-imaginal de hormônio juvenil sobre o tamanho do corpo e fisiologia reprodutiva de fêmeas recém-emergidas na vespa social, *Mischocyttarus consimilis*

Efeito da aplicação tópica pré-imaginal de hormônio juvenil sobre o tamanho do corpo e fisiologia reprodutiva de fêmeas recém-emergidas na vespa social, *Mischocyttarus consimilis*

Resumo

Os mecanismos reguladores da determinação de castas em insetos sociais menos derivados são em parte controversos, e continuam ainda pouco esclarecidos. Estudos recentes sugerem que as características morfofisiológicas e comportamentais que definem distintamente rainhas e operárias em espécies de vespas sociais menos derivadas podem ser em parte determinadas pré-imaginalmente. Assim sendo, nesse estudo foi testada a hipótese de que o hormônio juvenil (HJ) regula a determinação de casta pré-imaginal na vespa social de fundação independente *Mischocyttarus consimilis*. Os resultados demonstraram que fêmeas adultas que emergiram de larvas tratadas com HJ no terceiro instar foram significativamente maiores que as fêmeas de larvas sem tratamento. No entanto, a elevação dos títulos de HJ não prolongou o período de desenvolvimento larval e pupal, bem como não influenciou o aparecimento de ovócito pré-vitelogênico em fêmeas recém-emergidas. Esses resultados sugerem que o HJ pode desempenhar uma função importante na determinação de castas pré-imaginal em vespas sociais de fundação independente, sobretudo afetando positivamente o tamanho do corpo, sendo o terceiro instar larval o estágio mais crítico para às ações decisivas do HJ.

Palavras-chave: Fundação independente; determinação de casta; Biologia do desenvolvimento; Insetos sociais; Polistinae.

Introdução

A determinação de casta em insetos sociais é conhecida por ocorrer por ambas às formas pré ou pós-imaginal. Especialmente em vespas sociais de fundação independente a ausência de características morfológicas distintas entre rainhas funcionais e operárias é frequentemente citada como evidência contra a determinação de casta pré-imaginal (Gadgil & Mahabal, 1974; Haggard & Gamboa, 1980; Turillazzi, 1980; Solís & Strassmann, 1990; Mead & Gabouriaux, 1993). Para esses grupos tem sido demonstrado que comportamentos antagônicos entre os indivíduos adultos estabelecem as relações de dominância e fêmeas que sofrem agressões físicas assumem a submissão e se comportam como uma casta trabalhadora (Gadagkar, 1991).

Entretanto, alguns autores sugerem que a determinação de casta em grupos sociais menos-derivados pode, em parte, ocorrer pré-imaginalmente (O' Donnell, 1998; Tibbetts, 2006; Hunt, 2012). Evidências de determinação de casta pré-imaginal, incluindo diferenças no tamanho do corpo entre operárias e gines foram descritas para várias espécies de vespas sociais de fundação independente em Polistinae (West-Eberhard, 1969; Haggard & Gamboa, 1980; Miyano, 1983; Keeping, 2002). Além disso, resultados de estudos recentes relatam a existência de diferenças morfológicas qualitativas entre essas castas, especialmente variações morfométricas na área de secreção da glândula de Van der Vecht em espécies do gênero *Polistes* (Dapporto *et al.*, 2011; Petrocelli & Turillazzi, 2013).

Estudos apontam que diferenças fenotípicas entre castas de insetos sociais são geradas pela expressão diferencial de genes por indivíduos que compartilham um mesmo genótipo (Evans & Wheeler, 1999; Judice *et al.*, 2004; Sumner *et al.*, 2006; Hunt *et al.*, 2010; Azevedo *et al.*, 2011). A expressão diferencial de genes é controlada por processos fisiológicos que envolvem variações em títulos hormonais, dos quais o hormônio juvenil (HJ) exerce a função principal (Evans & Wheeler, 2001; Schwander *et al.*, 2010; Lattorff & Moritz, 2013). Por

exemplo, na abelha *Apis mellifera*, o HJ controla a expressão diferencial de genes durante um período crítico do desenvolvimento larval que é marcado por um aumento da sensibilidade a esse hormônio (Evans & Wheeler, 2000; Hepperle & Hartfelder, 2001; Wheeler *et al.*, 2006; Barchuk *et al.*, 2007).

Em vespas sociais de fundação independente, a função do HJ na determinação de casta pré-imaginal é menos conhecida, entretanto, alguns autores especulam que possa ser similar aos táxons mais-derivados (Tibbetts, 2006; Hunt *et al.*, 2007; Hunt *et al.*, 2010). Por exemplo, foi sugerido para *Polistes dominulus* que variações morfológicas entre operárias e gines, assim como diferenças no padrão facial sinalizando qualidade reprodutiva, são controladas pelo HJ em estágio pré-imaginal (Tibbetts, 2006). Um estudo experimental utilizando mRNAi para a proteína de estoque *Hexamerin1*, uma proteína estreitamente associada com a determinação de casta na abelha *Apis mellifera*, mostrou ser afetada pelos níveis de HJ durante a determinação de casta pré-imaginal em *Polistes metricus* (Hunt *et al.*, 2011). Da mesma forma, diferenças quantitativas em compostos da cutícula entre fundadoras e operárias em *P. dominulus* foram possivelmente associadas a variações nos títulos de HJ durante o desenvolvimento pré-adulto (Dapporto *et al.*, 2008). Além disso, tem sido sugerido que o HJ possa estar envolvido na expressão diferencial de genes que conduzem diferenças fenotípicas entre as castas em *Polistes canadensis* (Sumner *et al.*, 2006).

Vespas sociais de fundação independente de regiões tropicais (i. e. gênero *Polistes* e *Mischocyttarus*), são excelentes modelos para avaliar os mecanismos controladores da determinação de castas em grupos sociais menos derivados. Colônias de vespas sociais em regiões tropicais são fundadas durante todo o ano, e a expressão diferencial de castas nessas condições varia de acordo com ciclo colonial (West-Eberhard, 1969; Jeanne, 1972). De forma geral, operárias e gines são produzidas na fase inicial e reprodutiva da pós-emergência, respectivamente (Gadagkar, 1991). Entretanto, o assincronismo entre as colônias nessas

condições favorece a ocorrência de formas sexuais durante todo o ano (Giannotti, 1998; Tannure-Nascimento *et al.*, 2005; Torres *et al.*, 2011). Esses dados sugerem que o aparecimento de gines em populações de vespas sociais de fundação independente em regiões tropicais está menos sujeito aos fatores climáticos e, portanto, sugerem que fatores colônias podem ter maior influência na determinação de casta nessas condições.

Mischocyttarus consimilis é uma vespa social de fundação independente e que segue um ciclo de nidificação assincrônico (Richards, 1978; Torres *et al.*, 2011). Relativamente pouco é conhecido sobre sua história de vida, especialmente porque os primeiros estudos foram desenvolvidos apenas recentemente (Montagna *et al.* 2009; Montagna *et al.* 2010; Torres *et al.*, 2011; Torres *et al.*, 2012). Em geral, colônias dessa espécie são fundadas durante todo o ano, e seus ninhos consistem de um único favo que se prende ao substrato por um único pedúnculo centralizado (Montagna *et al.*, 2010; Torres *et al.*, 2011). Baseado em evidências de que a determinação de castas em vespas de fundação independente ocorra ao menos em parte no estágio pré-imaginal, o objetivo deste trabalho foi testar a hipótese de que variações nos títulos de HJ durante o desenvolvimento larval controla a expressão fenotípica diferenciada em fêmeas de *M. consimilis*.

Materiais & Métodos

Coleta e transferência das colônias para abrigos artificiais

Durante o período de estudo foram coletadas e transferidas para abrigos artificiais (Fig. 1A) um total de sete colônias de *M. consimilis*. Todas as colônias utilizadas nesse estudo foram localizadas em áreas rurais no município de Dourados (22°13'16''S; 54°48'20''W), estado de Mato Grosso do Sul, especialmente em beirais de casas abandonadas. As transferências de colônias para abrigos artificiais foram realizadas durante a noite, quando todos os adultos estavam presentes na colônia e o nível de estresse causado pelo manuseio era

relativamente menor. Para minimizar possíveis efeitos do estágio colonial nas variáveis analisadas, somente foram transferidas para os abrigos artificiais colônias pós-emergentes que estavam na fase de operárias (estágio que antecede a emergência de machos e gines).

Os abrigos artificiais possibilitaram a manutenção, monitoramento e manuseio das colônias durante todo o período de experimentação. Os abrigos artificiais foram construídos no entorno do Laboratório de Ecologia da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, campus de Dourados-MS. Cada abrigo artificial foi construído com a dimensão de 1,2 x 1,2 x 2,5 mts, em madeira, cobertos com telhas de regulação térmica e sem paredes laterais (Fig. 1A). As colônias foram fixadas em uma chapa de madeira instalada individualmente dentro de cada abrigo artificial (Fig. 1B). Cada chapa de madeira medindo 0,3 x 0,6 mts foi presa por um único ponto em uma ripa posicionada próximo da cobertura do abrigo, utilizando para isso uma dobradiça (Fig. 1C). Em cada uma das chapas de madeira foi fixada, utilizando cola de madeira, uma única colônia de *M. consimilis*. A partir da fixação da colônia na chapa de madeira era possível girá-la em 180 graus e, assim fazer a aplicação tópica de HJ a favor da gravidade (Fig. 1D). Como forma de prover condições ideais de temperatura e umidade para o desenvolvimento das colônias transferidas, os abrigos artificiais foram instalados próximos à uma vegetação arbustiva.

Procedimentos experimentais

A manipulação experimental, somente foi iniciada após as colônias transferidas estarem habituadas ao abrigo artificial, confirmado pela adição de novas células ao favo e alimentação das larvas.

Trabalhos prévios apresentaram evidências que o processo de determinação de casta pré-imaginal em vespas sociais de fundação independente tem início no terceiro instar larval (Suryanarayanan & Jeanne, 2008; Suryanarayanan *et al.*, 2011a). Resultados de vários

estudos sugerem que esse estágio é mais sensível às ações decisivas do HJ na trajetória diferencial entre as castas em grupos sociais mais-derivados, incluindo abelhas melíferas e vespas vespines (Ishay, 1975; Hartfelder & Engels, 1998; Antonialli-Junior & Cruz-Landim, 2009).

Portanto, a aplicação tópica de HJ foi feita em lotes de larvas de 3° instar (Tratamento 1), 4° instar (Tratamento 2) e 5° instar (Tratamento 3). A definição do instar de cada larva tratada foi feito baseando-se na largura da cápsula cefálica. Em uma análise prévia foram definidos os intervalos de valores métricos para a largura da cápsula cefálica para cada instar larval em *M. consimilis* de acordo com a regra de Dyar: 1° instar (0,4-0,5mm); 2° instar (0,6-0,7mm); 3° instar (0,9-1,1mm); 4° instar (1,3-1,5mm); 5° instar (1,9-2,2mm). Pelo método de mapeamento diário do ninho em papel hexagonado-impresso (Giannotti, 1998; Hunt *et al.*, 2011), foi possível acompanhar o crescimento, assim como a mudança de instar de cada larva, o que permitiu selecionar aquelas que eram passíveis de receber a dose do HJ em cada tratamento.

As larvas selecionadas foram tratadas com a aplicação tópica de uma dose de 1,0µg de HJ diluído em 1,0µl de acetona, utilizando para isso um micropipetador automático com capacidade volumétrica de 2,0 µl. Essa dosagem tem sido utilizada com sucesso para avaliar os efeitos do HJ na determinação de casta pré-imaginal em diferentes espécies de insetos sociais (Antonialli-Junior & Cruz-Landim, 2006; Penick *et al.*, 2012). Para minimizar o estresse causado pela manipulação todos os tratamentos foram realizados em período noturno.

A taxa de mortalidade e o tempo de desenvolvimento das larvas tratadas foram avaliados para cada tratamento. Para obter um maior número de larvas tratadas, cada tratamento foi realizado durante quatro semanas consecutivas na mesma colônia, com três procedimentos semanais de aplicação de HJ. Todas as fêmeas oriundas de larvas que receberam tratamento com HJ, bem como as controles foram coletadas logo após emergirem.

É importante destacar que devido à baixa densidade de imaturos em colônias experimentais, não foi possível avaliar a capacidade inerte do solvente como um segundo controle.

Análises morfofisiológicas

As medidas de nove variáveis morfométricas foram tomadas de um total de 118 fêmeas recém-emergidas conforme Gunnels (2007): altura da cabeça, distância máxima entre as margens internas dos olhos, distância mínima entre as margens internas dos olhos, comprimento do mesonotum, largura do mesonotum, comprimento do tórax, altura da mesopleura, comprimento da tibia e comprimento da asa anterior.

O grau de desenvolvimento ovariano foi determinado baseando-se na presença ou ausência de ovócito pré-vitelogênico nos ovários. Todas as medidas morfofisiológicas foram tomadas com auxílio de um estereomicroscópio Zeiss Stemi 2000C adaptado com uma ocular micrométrica (Carl Zeiss Microscopy, Oberkochen, Germany).

Análises estatísticas

As nove variáveis morfométricas mensuradas de fêmeas tratadas e sem tratamento, foram incluídas em uma análise de componentes principal (PCA), e o primeiro componente principal foi utilizado como índice de tamanho do corpo (Keeping, 2000; Gunnels, 2007). Dados de tamanho do corpo e tempo de desenvolvimento larval e pupal apresentaram distribuição normal (Shapiro-Wilk test; $P > 0,05$), bem como homogeneidade de variância (Bartlett's test; $P > 0,05$), portanto as diferenças entre as categorias de fêmeas foram avaliadas por testes paramétricos, incluindo Análise de Variância (ANOVA) e Dunnett test para comparações múltiplas. Os dados de desenvolvimento ovariano foram analisados utilizando o Teste de Qui-Quadrado (X^2). Para todas as análises a variável foi considerada ao nível de

significância de 0,05. Toda a análise estatística foi executada utilizando o software estatístico R (www.r-project.org).

Resultados

Foram tratadas com HJ um total de 460 larvas, entretanto, somente 81 dessas atingiram o estágio adulto. A maior taxa de mortalidade ocorreu em larvas tratadas no terceiro (85,7%) instar, seguido por larvas tratadas no quinto (80,9%) e quarto (79,3%) instar (Tabela 01).

A análise de componentes principais (PCA) com as nove variáveis morfométricas recuperou a maior parte da variância existente entre as quatro categorias de fêmeas experimentais. O primeiro eixo da PCA foi positivamente associado a todas às variáveis morfométricas e explicou 78,3% da variação total dos dados. A análise de variância utilizando o primeiro componente principal como a variável explanatória mostrou haver diferenças significativas no tamanho do corpo entre as fêmeas dos grupos tratamentos e controle (ANOVA; $F_{3-114}=3,15$; $P=0,02$; Fig. 02). Entretanto, o teste comparando diferenças entre os grupos demonstrou que somente as fêmeas tratadas no terceiro instar emergem com tamanho do corpo significativamente maior do que fêmeas controles (Dunnett test; $P<0,01$; Fig. 02).

Foi demonstrado ainda que a proporção de fêmeas recém-emergidas portando ovócitos pré-vitelogênico não foi afetada pela aplicação tópica pré-imaginal de HJ (Teste de Qui-quadrado; $X^2=1,48$; $P=0,68$; Fig. 03). Da mesma forma, o período de desenvolvimento larval e pupal não diferiram significativamente entre as fêmeas dos grupos tratamentos e controle (estágio larval, ANOVA; $F_{3-101}=0,50$; $P=0,68$; Fig. 04) (estágio pupal, ANOVA; $F_{3-101}=1,92$; $P=0,13$; Fig. 05).

Discussão

Os resultados desse estudo demonstram que há uma elevada taxa de mortalidade das larvas que foram submetidas aos tratamentos com HJ. Observações *in situ* revelaram que larvas tratadas em grande parte foram reconhecidas e agredidas por adultos que policiavam o ninho logo após os procedimentos de aplicação de HJ. Os atos agressivos que incluíam mordidas e mordiscadas foram suficientes para causar injúrias e a morte de várias larvas tratadas. Contudo, a elevada taxa de mortalidade não comprometeu a análise dos efeitos pré-imaginais do HJ, visto que um número significativo de larvas tratadas atingiu o estágio adulto em cada tratamento.

Deste modo, a análise dos dados experimentais demonstrou que a manipulação dos títulos de HJ em período específico do desenvolvimento larval, promove uma variação significativa no tamanho do corpo entre fêmeas tratadas e controles. Larvas tratadas no terceiro instar emergem significativamente maiores do que as larvas sem nenhum tratamento. Esses resultados corroboram as especulações prévias que sugerem haver uma associação entre a variação dos títulos de HJ e a expressão diferencial de características morfofisiológicas entre as castas em vespas sociais de fundação independente (Tibbetts, 2006; Hunt *et al.*, 2010).

A evolução para o controle da determinação de casta pré-imaginal pelos adultos pode ter promovido o início da diferenciação morfológica entre as castas nos insetos sociais. Sabe-se que fêmeas maiores em insetos sociais menos-derivados têm maior potencial reprodutivo devido a maior capacidade para a dominância e desenvolvimento ovariano (Turillazzi & Pardi, 1977; Tibbetts & Sheehan, 2012; Shukla *et al.*, 2013; Heinze & Oberstadt, 1999). Dessa forma, a evolução da diferenciação morfológica entre as castas nesses táxons pode ter sido selecionada a fim de reduzir o conflito social, em especial pela reprodução direta (Reeve, 1991; Bourke, 1999). Por exemplo, diferença de tamanho do corpo entre operárias e gines em vespas sociais de fundação independente pode ser explicada pela história de vida associada a cada uma dessas castas. Operárias são as fêmeas menores que se dedicam à manutenção e

defesa da colônia, enquanto, que gines são fêmeas maiores que acasalam e fundam novas colônias (Metcalf, 1980; Toth *et al.*, 2009). Variação fenotípica, incluindo diferenças no tamanho do corpo compreende uma das principais forças evolutivas que permitiu a divisão de trabalho reprodutivo entre as castas nos insetos sociais (O' Donnell, 1998).

O resultado mais significativo do tratamento com HJ ocorreu em larvas de terceiro instar, apontando para um efeito hormonal instar-dependente. Estudos prévios demonstraram que o estágio larval mais sensível às ações decisivas do HJ durante a determinação de casta pré-imaginal, pode variar entre as diferentes espécies de insetos sociais (Wheeler, 1986; Rachinsky & Hartfelder, 1990; Penick *et al.*, 2012). Por exemplo, na formiga *Harpegnathos saltator*, uma elevação dos títulos de HJ em larvas de penúltimo e último instar é suficiente para induzir o desenvolvimento de rainha (Penick *et al.*, 2012). Já, em abelha *Apis mellifera* as maiores taxas de biosíntese de HJ em larvas se desenvolvendo em rainhas ocorrem no terceiro instar (Rachinsky & Hartfelder, 1990; Hartfelder & Engels, 1998), período esse associado à expressão diferencial de genes controlando características morfofisiológicas diferenciadas entre as castas (Evans & Wheeler, 1999; Barchuk *et al.*, 2007; Patel *et al.*, 2007). No entanto, Schmidt-Capella & Hartfelder (1998) demonstraram que os efeitos da elevação tópica de HJ no controle de apoptose celular que causam diferenças morfológicas entre as castas, foram mais evidentes no quinto instar larval, justamente por ser nesse estágio em que os níveis normais de HJ estão mais baixos, e por isso seus efeitos são mais significativos. Por outro lado, Antonialli-Junior & Cruz-Landim (2009) estudando essa mesma espécie demonstraram que os efeitos do HJ sobre o controle de apoptose celular foram mais significativos quando a aplicação ocorreu no terceiro instar larval. Deve-se destacar também que apesar de não ter sido possível avaliar o efeito do solvente sozinho, é sabido por outros trabalhos que, de fato, ele não é inerte, entretanto, isto não impossibilitou de avaliar os

efeitos do HJ nesse estudo (Rachinsky & Hartfelder, 1990; Schmidt-Capella & Hartfelder, 1998; Antonialli-Junior & Cruz-Landim, 2009).

De fato, larvas de insetos sociais são dependentes do cuidado dos adultos e estudos mostram que operárias podem efetivamente manipular o desenvolvimento da larva para produzir determinado fenótipo de acordo com os interesses coloniais. Estudos recentes confirmam essa hipótese por demonstrar que adultos em vespas sociais podem interferir no desenvolvimento dos imaturos para produzir determinado fenótipo, de acordo com o estágio colonial (Fjerdingstad, 2005; Suryanarayanan & Jeanne, 2008; Suryanarayanan *et al.*, 2011a; Penick & Liebig, 2012; Shpigler *et al.*, 2013). Por exemplo, Suryanarayanan *et al.*, (2011a) demonstraram que larvas de *Polistes fuscatus* presentes em colônias pré-emergentes, experimentam altos níveis de antenação em comparação às larvas presentes em colônias pós-emergentes.

O comportamento de antenação é executado contra as paredes das células ocupadas por larvas e produz um barulho audível, funcionando como um mecanismo para a promoção de estresse, sendo que, larvas submetidas a altos níveis deste tipo de interferência durante seu desenvolvimento emergem com fenótipo típico de operárias, enquanto que larvas que experimentam baixos níveis emergem com fenótipo típico de gines (Suryanarayanan & Jeanne, 2008; Suryanarayanan *et al.*, 2011b). Entretanto, permanece por ser esclarecido se os títulos de HJ sofre variação de acordo com a intensidade da interferência mecânica em larvas manipuladas.

Por outro lado, as variações nos títulos de HJ durante a determinação de casta pré-imaginal em vespas sociais, podem ser analisadas sob uma perspectiva nutricional. Desde longo tempo é conhecido que os mecanismos que controlam a biosíntese de HJ no *corpora alata* em imaturos de insetos holometábolos, são afetadas por parâmetros nutricionais (Truman *et al.*, 2006; Mirth & Riddiford, 2007). Em insetos sociais os efeitos da nutrição

sobre os títulos de HJ durante a determinação de casta têm sido demonstrados para a abelha *Apis mellifera*, nas quais uma elevação dos títulos de HJ somente ocorre em larvas que experimentam uma dieta altamente nutritiva, ou seja, a base de geléia real (Winston, 1987; Rachinsky & Hartfelder, 1990; Rachinsky & Hartfelder, 1991).

Em vespas sociais de fundação independente uma associação entre a dieta e a síntese de HJ durante a determinação de casta ainda não é conhecida, contudo, alguns autores especulam que de fato possa existir (Karsai & Hunt, 2002; Hunt *et al.*, 2010; Suryanarayanan *et al.*, 2011b). Em vespas sociais tropicais com ciclos anuais, operárias e gines emergem em períodos distintos do ciclo colonial em que as taxas relativas de alocação de alimento pela colônia são diferentes, o que sugere uma possível relação entre alimentação diferencial e ontogenia pré-imaginal (West-Eberhard, 1969; Jeanne, 1972; Andrade & Prezoto, 2001; Gobbi *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2011).

Além disso, foi demonstrado que a aplicação tópica pré-imaginal de HJ não promoveu o aparecimento de ovócito pré-vitelogênico em fêmeas recém-emergidas. Esses dados sugerem que a elevação dos títulos de HJ não deve afetar o desenvolvimento ovariano em um estágio pré-adulto, bem como evidenciam que o investimento em ovócitos nessa espécie ocorre, sobretudo na fase adulta, assim como demonstrado em outras espécies de vespas sociais de fundação independente (Molina & O' Donnell, 2008; Shukla *et al.*, 2013).

Cnaani *et al.* (2000) demonstraram que o HJ influencia a determinação de casta na abelha *Bombus terrestris* especialmente por prolongar o período de desenvolvimento entre as mudas das larvas que se desenvolvem em rainhas. Em *M. consimilis* não houve diferenças significativas no tempo de desenvolvimento larval entre os indivíduos tratados e controles, sugerindo que o maior tamanho das fêmeas cujas larvas foram tratadas no terceiro instar é resultado de uma maior taxa de crescimento dessas larvas em relação às controles. Esses dados sugerem que larvas tratadas no terceiro instar foram alimentadas em taxas superiores as

controles, entretanto, permanece desconhecido se esse parâmetro nutricional diferenciado é quantitativo, qualitativo ou ambos.

Os resultados apresentados aqui, sobretudo aqueles mostrando diferenças de tamanho do corpo entre as fêmeas que foram tratadas no terceiro instar, evidenciam que o HJ tem um papel decisivo na determinação de casta pré-imaginal em espécies de vespa social de fundação independente e, que seu efeito é instar-dependente. Além disso, esses dados sugerem que os mecanismos pré-imaginais controladores da determinação de castas podem ter sido conservados ao longo da evolução dos himenópteros sociais. Dessa forma, conhecer os mecanismos que controlam o fenótipo dos indivíduos em um estágio pré-adulto possibilita levantar questões importantes sobre a evolução do comportamento social nos insetos, bem como, pode ajudar a responder questões envolvendo a relação entre o padrão fenotípico e a expressão de comportamento na vida adulta. Portanto, ainda são necessários mais estudos para esclarecer quais fatores afetam o padrão diferencial dos títulos de HJ durante a determinação de casta pré-imaginal nesse grupo, assim como a nutrição, temperatura ou níveis de exposição a estresse.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor. Ao FUNDECT pelo apoio financeiro (Proc. nº 23/200.767/2012). WFAJ agradece ao CNPq pela bolsa produtividade em pesquisa.

Referências

Andrade, F. R. & Prezoto, F. 2001. Horários de atividade forrageadora e material coletado por *Polistes ferreri* Saussure, 1853 (Hymenoptera: Vespidae), nas diferentes fases de seu ciclo biológico. Revista Brasileira de Zoociências 3: 117-128.

- Antonialli-Junior, W. F. & Cruz-Landim, C. 2006. Effect of topical application of juvenile hormone on the occurrence of cell death in the larvae of honeybee (*Apis mellifera*). Brazilian Journal of Morphological Sciences 23: 377-383.
- Antonialli-Junior, W. F. & Cruz-Landim, C. 2009. Efeitos da aplicação tópica de hormônio juvenil sobre o desenvolvimento dos ovários de larvas de operárias de *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae). Revista Brasileira de Entomologia 53: 115-120.
- Azevedo, S. V.; Caranton, O. A. M.; Oliveira, T. L. & Hartfelder, K. 2011. Differential expression of hypoxia pathway genes in honey bee (*Apis mellifera* L.) caste development. Journal of Insect Physiology 57: 38-45.
- Barchuk, A. R.; Cristino, A. S.; Kucharski, R.; Costa, L. F.; Simões, Z. L. P. & Maleszka, R. 2007. Molecular determinants of caste differentiation in the highly eusocial honeybee *Apis mellifera*. BMC Developmental Biology 7: 70.
- Bourke, A. F. G. 1999. Colony size, social complexity and reproductive conflict in social insects. Journal of Evolutionary Biology 12: 245-257.
- Cnaani, J.; Robinson, G. E. & Hefetz, A. 2000. The critical period for caste determination in *Bombus terrestris* and its juvenile hormone correlates. Journal of Comparative Physiology A 186: 1089-1094.
- Dapporto, L.; Lambardi, D. & Turillazzi, S. 2008. Not only cuticular lipids: first evidence of differences between foundresses and their daughters in polar substances in the paper wasp *Polistes dominulus*. Journal of Insect Physiology 54: 89-95.
- Dapporto, L.; Petrocelli, I. & Turillazzi, S. 2011. Incipient morphological castes in *Polistes gallicus* (Vespidae, Hymenoptera). Zoomorphology 130: 197-201.
- Evans, J. D. & Wheeler, D. E. 1999. Differential gene expression between developing queens and workers in the honey bee, *Apis mellifera*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 96: 5575-5580.

- Evans, J. D. & Wheeler, D. E. 2000. Expression profiles during honeybee caste determination. *Genome Biology* 2: 1.
- Evans, J. D. & Wheeler, D. E. 2001. Gene expression and the evolution of insect polyphenisms. *BioEssays* 23: 62-68.
- Fjerdingstad, E. J. 2005. Control of body size of *Lasius niger* ant sexuals - worker interests, genes and environment. *Molecular Ecology* 14: 3123-3132.
- Gadagkar, R. 1991. *Belonogaster*, *Mischocyttarus*, *Parapolybia*, and independent founding *Ropalidia*. In K.G. Ross & R.W. Matthews (editores). *The social biology of wasps*. pp. 149-190. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678pp.
- Gadgil, M. & Mahabal, A. 1974. Caste differentiation in the paper wasp *Ropalidia marginata* (Lep.). *Current Science* 43: 482.
- Giannotti, E. 1998. The colony cycle of the social wasp, *Mischocyttarus cerberus styx* Richards, 1940 (Hymenoptera, Vespidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 41: 217-224.
- Gobbi, N.; Noll, F. B. & Penna, M. A. H. 2006. "Winter" aggregations, colony cycle, and seasonal phenotypic change in the paper wasp *Polistes versicolor* in subtropical Brazil. *Naturwissenschaften* 93: 487-494.
- Gunnels, C. W. 2007. Seasonally variable eusocially selected traits in the paper wasp, *Mischocyttarus mexicanus*. *Ethology* 113: 648-660.
- Haggard, C. M. & Gamboa, G. J. 1980. Seasonal variation in body size and reproductive condition of a paper wasp, *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *The Canadian Entomologist* 112: 239-248.
- Hartfelder, K. & Engels, W. 1998. Social insect polymorphism: hormonal regulation of plasticity in development and reproduction in the honeybee. *Current Topics in Developmental Biology* 40: 45-77.

- Heinze, J. & Oberstadt, B. 1999. Worker age, size and social status in queenless colonies of the ant *Leptothorax gredleri*. *Animal Behaviour* 58: 751-759.
- Hepperle, C. & Hartfelder, K. 2001. Differentially expressed regulatory genes in honey bee caste development. *Naturwissenschaften* 88: 113-116.
- Hunt, J. H. 2012. A conceptual model for the origin of worker behaviour and adaptation of eusociality. *Journal of Evolutionary Biology* 25: 1-19.
- Hunt, J. H.; Kensinger, B. J.; Kossuth, J. A.; Henshaw, M. T.; Norberg, K.; Wolschin, F. & Amdam, G. V. 2007. A diapause pathway underlies the gyne phenotype in *Polistes* wasps, revealing an evolutionary route to caste-containing insect societies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 104: 14020-14025.
- Hunt, J. H.; Wolschin, F.; Henshaw, M. T.; Newman, T. C.; Toth, A. L. & Amdam, G. V. 2010. Differential gene expression and protein abundance evince ontogenetic bias toward castes in a primitively eusocial wasp. *PLoS ONE* 5: e10674.
- Hunt, J. H.; Mutti, N. S.; Havukainen, H.; Henshaw, M. T. & Amdam, G. V. 2011. Development of an RNA interference tool, characterization of its target, and an ecological test of caste differentiation in the eusocial wasp *Polistes*. *PLoS ONE* 6: e26641.
- Ishay, J. 1975. Caste determination by social wasps: cell size and building behaviour. *Animal Behaviour* 23: 425-431.
- Jeanne, R. L. 1972. Social biology of the neotropical wasp *Mischocyttarus drewseni*. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 144: 63-150.
- Judice, C.; Hartfelder, K. & Pereira, G. A. G. 2004. Caste-specific gene expression in the stingless bee *Melipona quadrifasciata* - Are there common patterns in highly eusocial bees? *Insectes Sociaux* 51: 352-358.

- Karsai, I. & Hunt, J. H. 2002. Food quantity affects traits of offspring in the paper wasp *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *Environmental Entomology* 31: 99-106.
- Keeping, M. G. 2000. Morpho-physiological variability and differentiation of reproductive roles among foundresses of the primitively eusocial wasp, *Belonogaster petiolata* (Degeer) (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Sociaux* 47: 147-154.
- Keeping, M. G. 2002. Reproductive and worker castes in the primitively eusocial wasp *Belonogaster petiolata* (DeGeer) (Hymenoptera: Vespidae): evidence for pre-imaginal differentiation. *Journal of Insect Physiology* 48: 867-879.
- Lattorff, H. M. G. & Moritz, R. F. A. 2013. Genetic underpinnings of division of labor in the honeybee (*Apis mellifera*). *Trends in Genetics* 29: 641-648.
- Mead, F. & Gabouriaut, D. 1993. Post-eclosion sensitivity to social context in *Polistes dominulus* Christ females (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Sociaux* 40: 11-20.
- Metcalf, R. A. 1980. Sex ratios, parent-offspring conflict, and local competition for mates in the social wasps *Polistes metricus* and *Polistes variatus*. *The American Naturalist* 116: 642-654.
- Mirth, C. K. & Riddiford, L. M. 2007. Size assessment and growth control: how adult size is determined in insects. *BioEssays* 29: 344-355.
- Miyano, S. 1983. Number of offspring and seasonal changes of their body weight in a paperwasp, *Polistes chinensis antennalis* Pérez (Hymenoptera: Vespidae), with reference to male production by workers. *Researches on Population Ecology* 25: 198-209.
- Molina, Y. & O' Donnell, S. 2008. A developmental test of the dominance-nutrition hypothesis: linking adult feeding, aggression, and reproductive potential in the paperwasp *Mischocyttarus mastigophorus*. *Ethology Ecology & Evolution* 20: 125-139.

- Montagna, T. S.; Torres, V. O.; Dutra, C. C.; Suárez, Y. R.; Antonialli-Junior, W. F. & Alves-Junior, V. V. 2009. Study of the foraging activity of *Mischocyttarus consimilis* (Hymenoptera: Vespidae). *Sociobiology* 53: 131-140.
- Montagna, T. S.; Torres, V. O.; Fernandes, W. D. & Antonialli-Junior, W. F. 2010. Nest architecture, colony productivity, and duration of immature stages in a social wasp, *Mischocyttarus consimilis*. *Journal of Insect Science* 10: 191.
- O' Donnell, S. 1998. Reproductive caste determination in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Annual Reviews of Entomology* 43: 323-446.
- Patel, A.; Fondrk, M. K.; Kaftanoglu, O.; Emore, C.; Hunt, G.; Frederick, K. & Amdam, G. V. 2007. The making of a queen: TOR pathway is a key player in diphenic caste development. *PLoS ONE* 2: e509.
- Penick, C. A. & Liebig, J. 2012. Regulation of queen development through worker aggression in a predatory ant. *Behavioral Ecology* 23: 992-998.
- Penick, C. A.; Prager, S. S. & Liebig, J. 2012. Juvenile hormone induces queen development in late-stage larvae of the ant *Harpegnathos saltator*. *Journal of Insect Physiology* 58: 1643-1649.
- Petrocelli, I. & Turillazzi, S. 2013. The morphology of Van der Vecht's organ as a tool to measure caste dimorphism in *Polistes* paper wasps: a comparative approach. *Journal Zoological Systematics and Evolutionary Research* 51: 274-278.
- Rachinsky, A. & Hartfelder, K. 1990. Corpora allata activity, a prime regulating element for caste-specific juvenile hormone titre in honey bee larvae (*Apis mellifera carnica*). *Journal of Insect Physiology* 36: 189-194.
- Rachinsky, A. & Hartfelder, K. 1991. Differential production of juvenile hormone and its desoxy precursor by corpora allata of honeybees during a critical period of caste development. *Naturwissenschaften* 78, 270-272.

- Reeve, H. K. 1991. *Polistes*. In K.G. Ross & R.W. Matthews (editors). The social biology of wasps, pp. 99-148. Ithaca, NY: Cornell University Press. 678pp.
- Richards, O. W. 1978. The social wasps of the Americas excluding the Vespinae. London, British Museum (Natural History). 580pp.
- Schmidt-Capella, I. C. & Hartfelder, K. 1998. Juvenile hormone effect on DNA synthesis and apoptosis in caste-specific differentiation of the larval honey bee (*Apis mellifera* L.) ovary. *Journal of Insect Physiology* 44: 385-391.
- Schwander, T.; Lo, N.; Beekman, M.; Oldroyd, B. P. & Keller, L. 2010. Nature versus nurture in social insect caste differentiation. *Trends in Ecology and Evolution* 25: 275-282.
- Shpigler, H.; Tamarkin, M.; Gruber, Y.; Poleg, M.; Siegel, A. J. & Bloch, G. 2013. Social influences on body size and developmental time in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 67: 1601-1612.
- Shukla, S.; Shilpa, M. C. & Gadagkar, R. 2013. Virgin wasps develop ovaries on par with mated females, but lay fewer eggs. *Insectes Sociaux* 60: 345-350.
- Solís, C. R. & Strassmann, J. E. 1990. Presence of brood affects caste differentiation in the social wasp, *Polistes exclamans* Viereck (Hymenoptera: Vespidae). *Functional Ecology* 4: 531-541.
- Sumner, S.; Pereboom, J. J. M. & Jordan, W. C. 2006. Differential gene expression and phenotypic plasticity in behavioural castes of the primitively eusocial wasp, *Polistes canadensis*. *Proceedings of the Royal Society of London B* 273: 19-26.
- Suryanarayanan, S. & Jeanne, R. L. 2008. Antennal drumming, trophallaxis, and colony development in the social wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology* 114: 1201-1209.

- Suryanarayanan, S.; Hantschel, A. E.; Torres, C. G. & Jeanne, R. L. 2011a. Changes in the temporal pattern of antennal drumming behavior across the *Polistes fuscatus* colony cycle (Hymenoptera: Vespidae). *Insectes Sociaux* 58: 97-106.
- Suryanarayanan, S.; Hermanson, J. C. & Jeanne, R. L. 2011b. A mechanical signal biases caste development in a social wasp. *Current Biology* 21: 231-235.
- Tannure-Nascimento, I. C., Nascimento, F. S. & Zucchi, R. 2005. Size and colony cycle in *Polistes satan*, a neotropical paper wasp (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology Ecology & Evolution*, 17: 105-119.
- Tibbetts, E. A. 2006. Badges of status in worker and gyne *Polistes dominulus* wasps. *Annales Zoologici Fennici* 43: 575-582.
- Tibbetts, E. A. & Sheehan, M. J. 2012. The effect of juvenile hormone on *Polistes* wasp fertility varies with cooperative behavior. *Hormones and Behavior* 61: 559-564.
- Toth, A. L.; Bilof, K. B. J.; Henshaw, M. T.; Hunt, J. H. & Robinson, G. E. 2009. Lipid stores, ovary development, and brain gene expression in *Polistes metricus* females. *Insectes Sociaux* 56: 77-84.
- Torres, V. O.; Montagna, T. S.; Fernandes, W.D. & Antonialli-Junior, W.F. 2011. Colony cycle of the social wasp *Mischocyttarus consimilis* Zikán (Hymenoptera: Vespidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 55: 247-252.
- Torres, V. O.; Montagna, T. S.; Raizer, J. & Antonialli-Junior, W. F. 2012. Division of labor in colonies of the eusocial wasp, *Mischocyttarus consimilis*. *Journal of Insect Science* 12: 21.
- Truman, J. W.; Hiruma, K.; Allee, J. P.; MacWhinnie, S. G. B.; Champlin, D. T. & Riddiford, L. M. 2006. Juvenile hormone is required to couple imaginal disc formation with nutrition in insects. *Science* 312: 1385-1388.

- Turillazzi, S. & Pardi, L. 1977. Body size and hierarchy in polygynic nests of *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). *Monitore Zoologico Italiano - Italian Journal of Zoology* 11: 101-112.
- Turillazzi, S. 1980. Seasonal variations in the size and anatomy of *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). *Monitore Zoologico Italiano - Italian Journal of Zoology* 14: 63-75.
- West-Eberhard, M. J. 1969. The social biology of Polistine wasps. Michigan, Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan, n° 140. 101pp.
- Wheeler, D. E. 1986. Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *The American Naturalist* 128: 13-34.
- Wheeler, D. E.; Buck, N. & Evans, J. D. 2006. Expression of insulin pathway genes during the period of caste determination in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology* 15: 597-602.
- Winston, M. L. 1987. The biology of the honey bee. Cambridge, MA: Harvard University Press. 296pp.

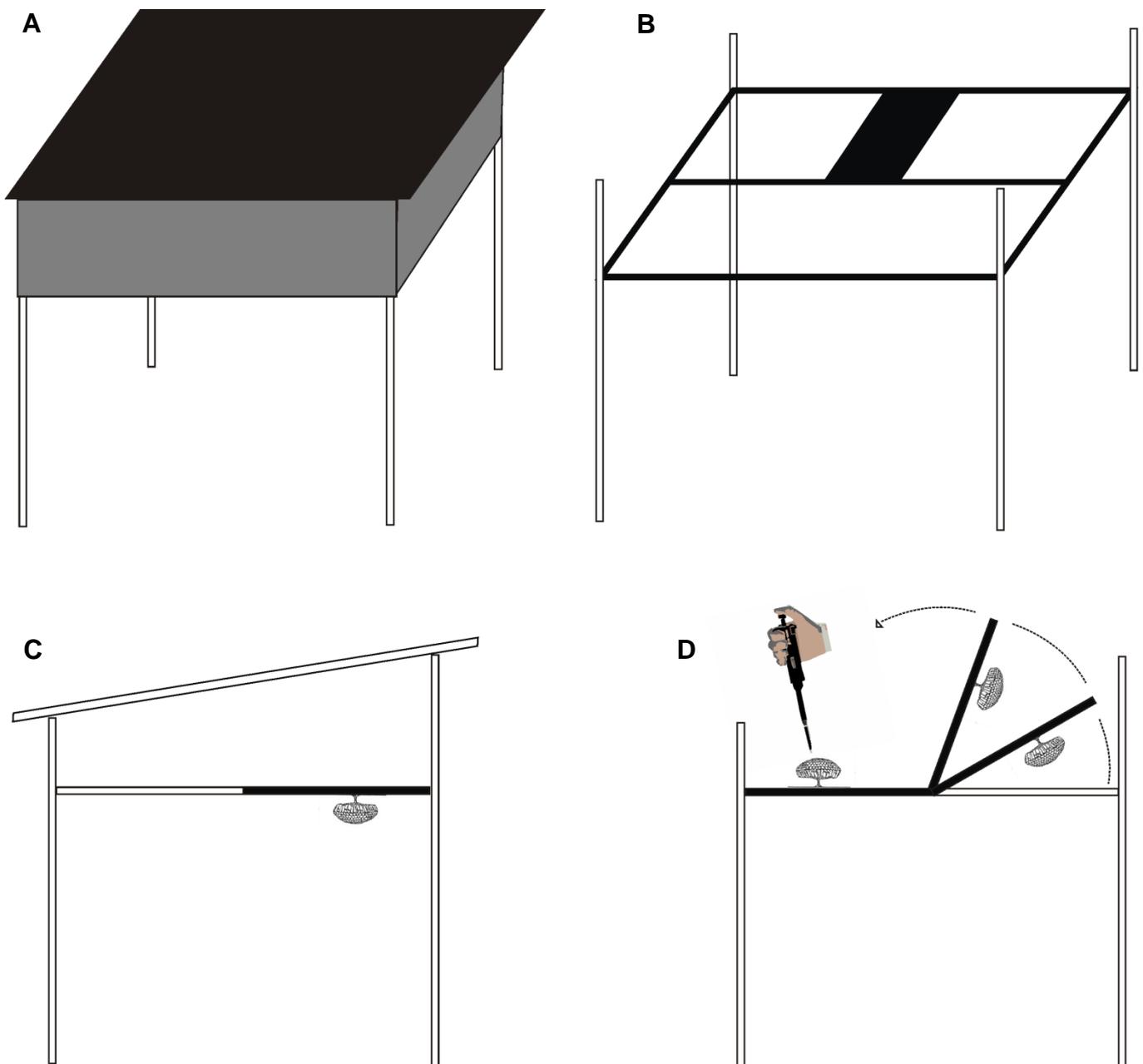


Fig. 01. (A) Abrigo artificial para manutenção e manipulação experimental de colônias de vespas sociais. (B) Vista interna do abrigo artificial mostrando a posição da chapa de madeira, utilizada para a fixação da colônia. (C) Colônia fixada na chapa de madeira. (D) Procedimento de aplicação tópica de hormônio juvenil (HJ) a favor da gravidade, a partir do giro da chapa de madeira em 180 graus.

Tabela 01. Taxa de mortalidade das larvas tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais, baseado em dados de sete colônias experimentais de *Mischocyttarus consimilis*.

Tratamento (HJ)	No. larvas tratadas	No. larvas tratadas que atingiram o estágio adulto	Taxa de mortalidade (%)
3°-instar	202	29	85,7
4°-instar	164	34	79,3
5°-instar	94	18	80,9

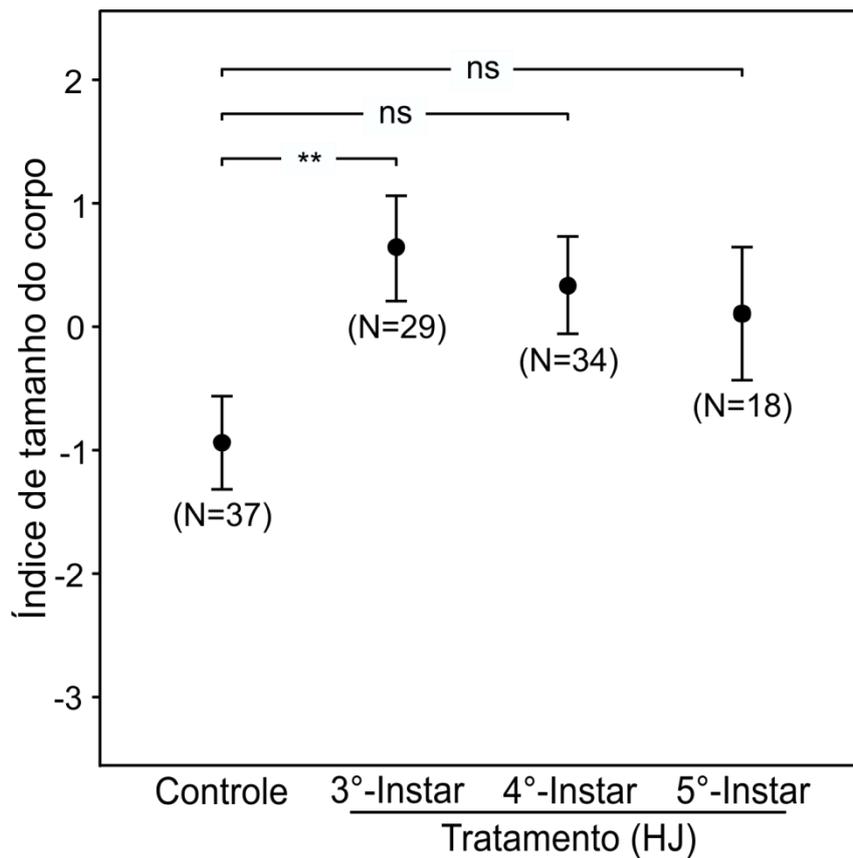


Fig. 02. Variação no índice de tamanho do corpo (média±DP) de fêmeas de *Mischozyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. ** ($p < 0,01$); ns ($p > 0,05$).

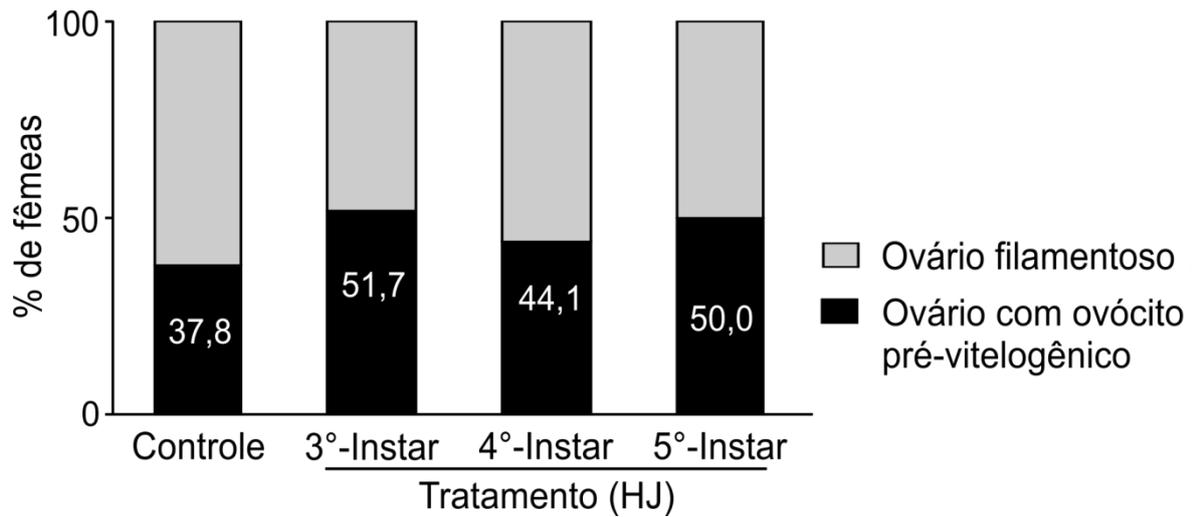


Fig. 03. Frequência de ocorrência de dois tipos de ovários em fêmeas recém-emergidas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais.

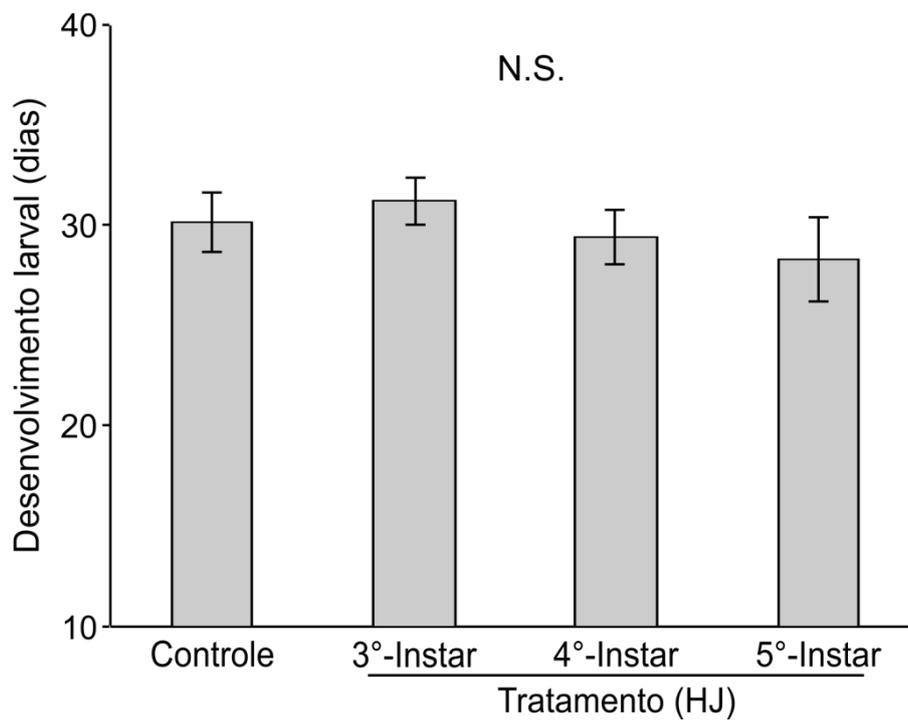


Fig. 04. Média do desenvolvimento larval (dias), para as diferentes fêmeas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. N.S. indica diferença não significativa ($p > 0,05$).

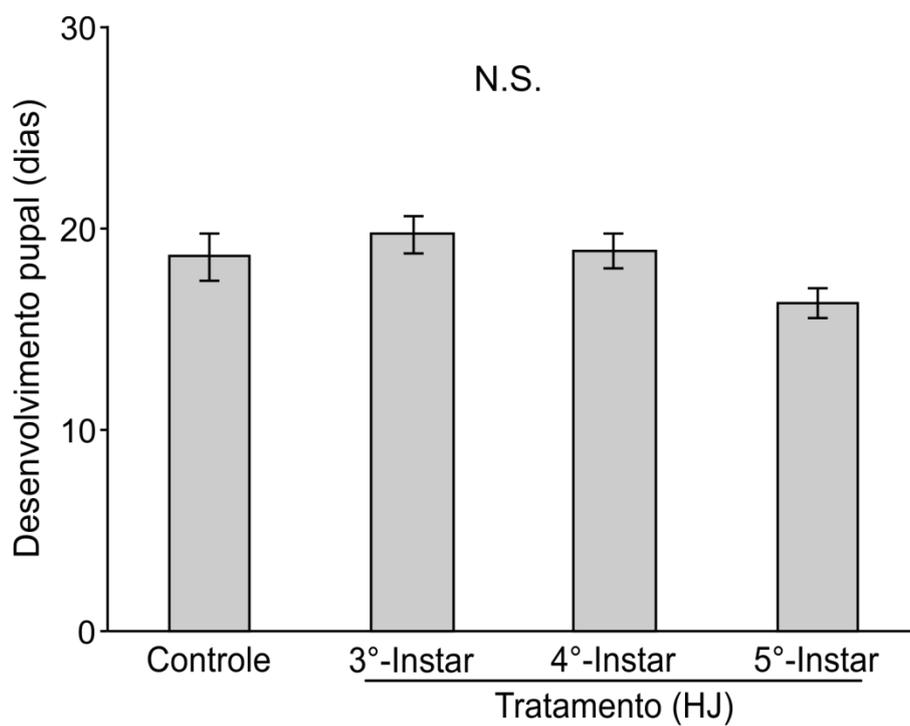


Fig. 05. Média do desenvolvimento pupal (dias), para as diferentes fêmeas de *Mischoctytarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. N.S. indica diferença não significativa ($p > 0,05$).

Capítulo IV

Efeito da aplicação tópica pré-imaginal de hormônio juvenil sobre o fenótipo comportamental e fisiologia reprodutiva de fêmeas adultas na vespa social, *Mischocyttarus consimilis*

Efeito da aplicação tópica pré-imaginal de hormônio juvenil sobre o fenótipo comportamental e fisiologia reprodutiva de fêmeas adultas na vespa social, *Mischocyttarus consimilis*

Resumo

Em colônias de insetos sociais há uma pronunciada divisão de tarefas, das quais a função reprodutiva é exercida pela rainha. Entretanto, em espécies de vespas sociais de fundação independente, fêmeas abaixo da rainha mantêm o potencial reprodutivo e podem assumir a função de rainha se for necessário. Portanto, uma das questões centrais em estudo com esse tema é conhecer os fatores que afetam o status social entre fêmeas adultas em espécies nas quais diferenças morfológicas entre rainhas e operárias são menos pronunciadas. Dessa forma, nesse estudo foi testada a hipótese de que a elevação dos títulos de hormônio juvenil por aplicação tópica em estágio pré-imaginal poderia alterar o grau de desenvolvimento ovariano e por consequência o fenótipo comportamental de fêmeas adultas na vespa social *Mischocyttarus consimilis*. Os resultados demonstraram que fêmeas adultas, cujas larvas foram tratadas com HJ, sobretudo no terceiro instar permaneceram significativamente mais tempo na colônia, bem como receberam menos agressão física das companheiras de ninho. Entretanto, a elevação dos títulos de HJ não teve efeito significativo sobre o desenvolvimento ovariano destas fêmeas. Esses resultados são evidências de que a variação dos títulos de HJ em período específico do desenvolvimento larval pode levar a uma mudança no comportamento e status social em fêmeas adultas, permitindo inferir que a determinação de casta em vespas sociais de fundação independente pode ser em parte pré-imaginal.

Palavras-chave: Divisão de trabalho; Estratégia reprodutiva; Determinação de casta; Polistinae.

Introdução

Em colônias de insetos sociais há uma pronunciada divisão de tarefas, das quais a função reprodutiva é exercida pela rainha (Robinson, 1992). Entretanto, em espécies menos derivada fêmeas abaixo da rainha mantém o potencial reprodutivo e pode assumir a função reprodutiva da colônia se necessário (Strassmann & Meyer, 1983; Monnin & Peeters, 1999). Nessas sociedades há uma hierarquia reprodutiva que está intimamente associada à posição que cada fêmea ocupa dentro de uma hierarquia de dominância (van Doorn & Heringa, 1986; Bridge & Field, 2007; Bang & Gadagkar, 2012). Fêmeas melhor ranqueadas na hierarquia de dominância forrageiam menos, têm maior acesso à comida trazida pelas forrageadoras e são as mais cotadas para assumir a função reprodutiva da colônia na ausência da reprodutora (Turillazzi & Pardi, 1977; Hughes & Strassmann, 1988; Molina & O' Donnell, 2009).

Em espécies mais derivadas diferenças morfofisiológicas entre rainhas e operárias definem a divisão de trabalho reprodutivo colonial (Julian *et al.*, 2002; Amdam *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2008a). Nesses grupos uma trajetória pré-imaginal diferenciada influenciada principalmente por alimentação diferencial tem sido a regra para essas diferenças morfofisiológicas (Haydak, 1943; Winston, 1987; Smith *et al.*, 2008b; Schwander *et al.*, 2010; Schmidt *et al.*, 2012). Dessa forma, uma das questões centrais em estudos com insetos sociais menos derivados é conhecer quais fatores pré-imaginais influenciam a morfologia e a ontogenia comportamental dos adultos, já que indivíduos nesses grupos são totipotentes, podendo exercer ou não a função reprodutiva (Toth *et al.*, 2005; Lattorff & Moritz, 2013).

Em vespas sociais de fundação independente, uma análise das diferenças morfofisiológicas entre castas sob a perspectiva nutricional pré-imaginal tem sido feita de

forma especulativa (Eickwort, 1969; Haggard & Gamboa, 1980; Grechka & Kipyatkov, 1983; Miyano, 1998; Karsai & Hunt, 2002; Judd *et al.*, 2010). Por exemplo, em colônias de vespas sociais com ciclos anuais, assim como *Polistes* e *Mischocyttarus*, operárias são produzidas no início da pós-emergência, especialmente porque colônias nessa fase têm grande demanda por força-de-trabalho (Haggard & Gamboa, 1980; Dani, 1994; Keeping, 2002). Operárias se dedicam, sobretudo, à manutenção e defesa da colônia, bem como, ao cuidado dos imaturos (Eickwort, 1969; Jeanne, 1972). Ao contrário, gines são produzidas na fase reprodutiva da pós-emergência (West-Eberhard, 1969; Haggard & Gamboa, 1980; Miyano, 1983), e em geral investem na reprodução própria e pouco contribui com a colônia maternal (Turillazzi, 1980; Keeping, 1997).

Dessa forma é esperado que fêmeas com fenótipo de gines poderiam aumentar suas chances para a reprodução direta por permanecer na colônia maternal, bem como, induzir as outras fêmeas a forragear (Cant & Field, 2001; Molina & O' Donnell, 2009; de Souza & Prezoto, 2011). Por exemplo, Molina & O' Donnell (2008) demonstraram que fêmeas que recebem altas taxas de agressão iniciam a atividade de forrageamento em idade anterior a das fêmeas que permanecem sem receber agressão ou que recebem em taxas relativamente menores. Além disso, esses atos agressivos inibem o desenvolvimento ovariano de fêmeas agredidas, conduzindo essas fêmeas a executar comportamentos típicos de operárias (Jeanne, 1991). Essa hipótese é suportada por estudos que avaliaram o efeito da agressão sobre o desenvolvimento ovariano em fêmeas maduras de *Mischocyttarus mastigophorus* e *Polistes instabilis* (Markiewicz & O' Donnell, 2001; Molina & O' Donnell, 2007; Molina & O' Donnell, 2009).

Esses dados sugerem que divergências fenotípicas fixadas pré-imaginalmente podem ser à base para a ontogenia comportamental diferenciada entre as castas em espécies de vespas sociais de fundação independente (Karsai & Hunt, 2002; Dapporto *et al.*, 2011;

Petrocelli & Turillazzi, 2013). Portanto, conhecer os fatores que influenciam a expressão diferencial de atributos fenotípicos entre operárias e gines nessas sociedades promove um passo importante para o conhecimento dos fatores influenciando a divisão de trabalho reprodutivo entre as castas nos insetos sociais menos derivados (O' Donnell, 1996; Tibbetts & Sheehan, 2012).

O hormônio juvenil (HJ) é conhecido por conduzir uma importante função gonadotrófica em fêmeas reprodutivas em vários táxons de insetos sociais (Bohm, 1972; Barth *et al.*, 1975; Röseler, 1977; Röseler *et al.*, 1980; Röseler *et al.*, 1984; Giray *et al.*, 2005). Tem sido demonstrado que variações nos títulos desse hormônio têm efeito sobre a ontogênica comportamental e fisiologia reprodutiva em fêmeas de diferentes espécies de vespas sociais de fundação independente (Giray *et al.*, 2005; Shorter & Tibbetts, 2009). Em polistine são fortes os indícios da influencia do HJ sobre a regulação de ambos os atributos, capacidade de reprodução e status de dominância. Por exemplo, em vespas sociais dos gêneros *Polistes* e *Ropalidia*, o HJ influencia o desenvolvimento ovariano em rainhas, bem como o estabelecimento da hierarquia de dominância entre as operárias (Röseler, 1977; Röseler *et al.*, 1984; Agrahari & Gadagkar, 2003). Embora haja um considerável número de trabalhos explorando a associação entre parâmetros morfofisiológicos e comportamentais em fêmeas adultas, poucos foram aqueles que investigaram os efeitos pré-imaginais do HJ nesses aspectos (O' Donnell, 1998).

Alguns desses trabalhos investigaram como variações no tamanho do corpo influenciam a expressão de comportamento de dominância e a fisiologia reprodutiva em fêmeas com potencial reprodutivo (Turillazzi & Pardi, 1977; Cervo *et al.*, 2008; Liebert *et al.*, 2008; Tibbetts & Sheehan, 2012). No entanto, ainda não há relatos de trabalhos que tenham explorado o efeito da aplicação tópica pré-imaginal de HJ sobre a fisiologia e comportamento em adultos de vespas sociais de fundação independente. Dessa forma, o objetivo desse estudo

foi investigar a influencia da aplicação tópica pré-imaginal de HJ no comportamento e desenvolvimento ovariano em fêmeas adultas da vespa social *Mischocyttarus consimilis*.

Materiais & Métodos

Coleta e transferência das colônias para abrigos artificiais

Durante o período de estudo foram coletadas e transferidas para abrigos artificiais (Fig. 1A) um total de quatro colônias de *M. consimilis*. Todas as colônias utilizadas nesse estudo foram localizadas em áreas rurais no município de Dourados (22°13'16''S; 54°48'20''W), estado de Mato Grosso do Sul, especialmente em beirais de casas abandonadas. As transferências foram realizadas durante a noite, quando todos os adultos estavam presentes na colônia e o nível de estresse causado pelo manuseio era relativamente menor. Para minimizar possíveis efeitos do estágio colonial nas variáveis analisadas, somente foram transferidas para os abrigos artificiais colônias pós-emergentes que estavam na fase de operárias (estágio que antecede a emergência de machos e gines).

Os abrigos artificiais possibilitaram a manutenção, monitoramento e manuseio das colônias durante todo o experimento. Cada abrigo artificial foi instalado no entorno do Laboratório de Ecologia da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, campus de Dourados-MS. Cada abrigo artificial foi construído com a dimensão de 1,2 x 1,2 x 2,5 mts, em madeira, cobertos com telhas de regulação térmica e sem paredes laterais (Fig. 1A). As colônias foram fixadas em uma chapa de madeira instalada individualmente dentro de cada abrigo artificial (Fig. 1B). Cada chapa de madeira medindo 0,3 x 0,6 mts foi presa por um único ponto em uma ripa posicionada próximo da cobertura do abrigo, utilizando para isso uma dobradiça (Fig. 1C). Em cada uma das chapas de madeira foi fixada, utilizando cola de madeira, uma única colônia de *M. consimilis*. A partir da fixação da colônia na chapa de madeira era possível girá-la em 180 graus e, assim fazer a aplicação tópica de HJ a favor da

gravidade (Fig. 1D). Como forma de prover condições ideais de temperatura e umidade para o desenvolvimento das colônias transferidas, os abrigos artificiais foram instalados próximos a uma vegetação arbustiva.

Procedimentos experimentais

A manipulação experimental, somente foi iniciada após as colônias transferidas estarem habituadas ao abrigo artificial, confirmado pela adição de novas células ao favo e alimentação das larvas.

Trabalhos prévios apresentaram evidências que o processo de determinação de casta pré-imaginal em vespas sociais de fundação independente tem início no terceiro instar larval (Suryanarayanan & Jeanne, 2008; Suryanarayanan *et al.*, 2011a). Resultados de vários estudos sugerem que esse estágio é mais sensível às ações decisivas do HJ na trajetória diferencial entre as castas em grupos sociais mais-derivados, incluindo abelhas melíferas e vespas vespines (Ishay, 1975; Hartfelder & Engels, 1998; Antonialli-Junior & Cruz-Landim, 2009).

Portanto, a aplicação tópica de HJ foi feita em lotes de larvas de 3º instar (Tratamento 1), 4º instar (Tratamento 2) e 5º instar (Tratamento 3). A definição do instar de cada larva tratada foi feito baseando-se na largura da cápsula cefálica. Em uma análise prévia foram definidos os intervalos de valores métricos para a largura da cápsula cefálica para cada instar larval em *M. consimilis* de acordo com a regra de Dyar: 1º instar (0,4-0,5mm); 2º instar (0,6-0,7mm); 3º instar (0,9-1,1mm); 4º instar (1,3-1,5mm); 5º instar (1,9-2,2mm). Pelo método de mapeamento diário do ninho em papel hexagonado-impresso (Giannotti, 1998; Hunt *et al.*, 2011), foi possível acompanhar o crescimento, assim como a mudança de instar de cada larva, o que permitiu selecionar aquelas que eram passíveis de receber a dose do HJ em cada tratamento.

As larvas selecionadas foram tratadas com a aplicação tópica de uma dose de 1,0µg de HJ diluído em 1,0µl de acetona, utilizando para isso um micropipetador automático com capacidade volumétrica de 2,0 µl. Essa dosagem tem sido utilizada com sucesso para avaliar os efeitos do HJ na determinação de casta pré-imaginal em diferentes espécies de insetos sociais (Antonialli-Junior & Cruz-Landim, 2006; Penick *et al.*, 2012). Para minimizar o estresse causado pela manipulação todos os tratamentos foram realizados em período noturno.

Para obter um maior número de larvas tratadas, cada tratamento foi realizado durante quatro semanas consecutivas na mesma colônia, com três procedimentos semanais de aplicação de HJ. É importante destacar que devido à baixa densidade de imaturos em colônias experimentais, não foi possível avaliar a capacidade inerte do solvente como um segundo controle.

Análises comportamentais e fisiológicas

Cada fêmea recém-emergida, cujas larvas foram tratadas e controles receberam uma marcação com um ponto colorido no tórax. As observações comportamentais foram realizadas no dia em que a fêmea marcada completou oito dias de idade-adulta. Conforme demonstrado por Torres *et al.* (2012) fêmeas de *M. consimilis* com idade de oito dias estão aptas para expressar os comportamentos avaliados nesse estudo.

Os comportamentos de permanecer no ninho e receber agressão física das companheiras do ninho foram avaliados para um total de 37 fêmeas, totalizando 185 horas de observação *in situ*. Cada fêmea marcada foi observada por duas horas contínuas no período da manhã (entre 09h00min e 11h00min) e por três horas contínuas no período da tarde (entre 13h00min e 16h00min). Em cada sessão de observação foi quantificado o tempo em que cada fêmea marcada esteve presente na colônia. Foi calculada ainda a taxa de agressão física em que cada fêmea marcada recebeu das companheiras do ninho (número total de agressões

recebidas por hora de presença no ninho) conforme, Markiewicz & O' Donnell (2001). Os comportamentos agressivos avaliados incluíram mordidas, mordiscadas, prender e montar sobre outra fêmea, conforme descrito em Bruyndonckx *et al.* (2006).

Ao final do período de observação cada fêmea marcada foi coletada e eutanaziada (submetidas ao congelamento por 30 minutos). Em seguida seus gásteres foram extraídos e fixados em solução de dietrich por três semanas consecutivas e depois desse período armazenados em álcool 70% para posterior dissecação e análise do desenvolvimento ovariano.

Cada gáster foi dissecado em uma placa de petri contendo solução fisiológica. De cada fêmea foi obtido o comprimento médio dos seis maiores ovócitos e essa medida foi utilizada como índice de desenvolvimento ovariano individual (Cervo & Lorenzi, 1996; Sledge *et al.*, 2004; Giray *et al.*, 2005). O comprimento dos ovócitos foi obtido com auxílio de um estereomicroscópio Zeiss Stemi 2000C adaptado com uma ocular micrométrica (Carl Zeiss Microscopy, Oberkochen, Germany).

Análises estatísticas

Os dados de comportamento e desenvolvimento ovariano das fêmeas tratadas e controles não apresentaram distribuição normal (Shapiro-Wilk test; $P < 0,05$), portanto as diferenças entre os grupos foram avaliadas por testes não paramétricos, incluindo análise de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney U test para comparações múltiplas, seguido por correção de Bonferroni. Para todas as análises foi considerado o nível de significância de 0,05. Todas as análises foram executadas utilizando o software estatístico R (www.r-project.org).

Resultados

O tempo de presença no ninho diferiu significativamente entre as fêmeas do grupo tratamento e controle (Kruskal-Wallis; $H=12,02$; $df=3$; $P<0,01$; Fig. 01 e Tabela 01). A análise comparando o tempo de presença no ninho entre as fêmeas tratadas e controles demonstrou que somente fêmeas que emergem de larvas tratadas com HJ no terceiro instar, permanecem significativamente mais tempo no ninho quando comparado com fêmeas que emergem de larvas sem tratamento (Mann-Whitney U test; $P<0,01$; correção de Bonferroni; Fig. 01). As taxas de agressão física diferiram significativamente entre as fêmeas dos diferentes grupos de tratamento e controle (Kruskal-Wallis; $H=22,03$; $df=3$; $P<0,001$; Fig. 02 e Tabela 01). Análise entre os grupos demonstrou que fêmeas que emergiram de larvas tratadas com HJ no terceiro e quarto instar (Mann-Whitney U test; $P<0,001$ e $P=0,03$ respectivamente; correção de Bonferroni; Fig. 02), recebem significativamente menos agressão física das companheiras do ninho, quando comparado às fêmeas controles. Por outro lado, o grau de desenvolvimento ovariano não diferiu significativamente entre as fêmeas do grupo tratamento e controle (Kruskal-Wallis; $H=6,77$; $df=3$; $P=0,08$; Fig. 03 e Tabela 01).

Discussão

Os resultados desse estudo demonstram pela primeira vez que a aplicação tópica de HJ em período específico do desenvolvimento larval afeta o fenótipo comportamental de fêmeas adultas em vespas sociais de fundação independente. Fêmeas de *M. consimilis* cujas larvas foram tratadas no terceiro instar permaneceram mais tempo no ninho, bem como receberam menos agressão física das companheiras de ninho. Estes resultados suportam a hipótese de que fatores pré-imaginais devem influenciar a expressão de comportamentos diferenciados entre as castas em vespas sociais de fundação independente. Por outro lado, discordam das hipóteses que defendem que a determinação de casta nesse táxon ocorre exclusivamente durante a fase adulta.

Diferentes autores têm proposto que variações comportamentais entre fêmeas adultas em espécies de vespas sociais de fundação independente são reflexos de diferentes pressões seletivas que os indivíduos experimentam durante o período de desenvolvimento pré-imaginal (West-Eberhard, 1986; Karsai & Hunt, 2002; Keeping, 2002; Hunt, 2006). De fato, há evidências de que a alimentação diferencial larval contribui para a expressão de determinado fenótipo e pode influenciar a ontogenia comportamental de adultos em vespas sociais de fundação independente (Miyano, 1998; Gadagkar *et al.*, 1991). Estes estudos também reforçam a hipótese de que atributos fenotípicos fixados pré-imaginalmente possivelmente controlados por alimentação diferencial e títulos de HJ, são as principais forças evolutivas que promoveram a divisão de trabalho reprodutivo entre as castas nos insetos sociais menos derivados (Wheeler, 1986; O' Donnell, 1995; O' Donnell, 1998; Hunt, 2006).

Fêmeas oriundas de larvas tratadas com HJ no terceiro instar permaneceram mais tempo no ninho, bem como receberam menos agressão física das companheiras do ninho quando comparado com fêmeas oriundas de larvas sem tratamento. O controle sobre o forrageamento das operárias em colônias de vespas sociais, em muitos casos, envolve o direcionamento de comportamentos de dominância das fêmeas de ranqueamento alto para fêmeas de ranqueamento mais baixo na hierarquia de dominância (Reeve & Gamboa, 1983; Bruyndonckx *et al.*, 2006). Fêmeas bem ranqueadas na hierarquia de dominância permanecem relativamente mais tempo no ninho e, em geral recebem menos agressão física das companheiras de ninho (Premnath *et al.*, 1995; Ishikawa *et al.*, 2011). Dessa forma, a posição hierárquica alta adotada por fêmeas cujas larvas receberam aplicação de HJ no terceiro instar, pode estar associado ao efeito do hormônio sobre o tamanho do corpo dessas fêmeas. Por outro lado, em diferentes espécies de vespas sociais de fundação independente a hierarquia de dominância em colônias pós-emergentes é formada por gerontocracia com as fêmeas mais

velhas ocupando as posições mais elevadas na hierarquia de dominância (Pardi, 1948; Molina & O' Donnell, 2009; Ishikawa *et al.*, 2010).

Uma hipótese possível para a alteração do fenótipo comportamental é que fêmeas adultas que foram tratadas com HJ no terceiro instar expressavam uma assinatura química cuticular que as diferenciavam de outras fêmeas da colônia. Essa hipótese é sustentada por estudos que investigaram a associação entre status social e composição química da cutícula em diferentes espécies de insetos sociais. Por exemplo, Dietemann *et al.* (2003) demonstraram que operárias e rainhas da formiga *Myrmecia gulosa*, diferem na proporção de hidrocarbonos específicos presentes na cutícula. Sinais químicos na cutícula também têm sido utilizados como informação de status social em abelhas sociais, bem como em várias espécies de vespas sociais de fundação independente (Bonavita-Cougourdan *et al.*, 1991; Sledge *et al.*, 2001; Dapporto *et al.*, 2005; Sramkova *et al.*, 2008).

Fêmeas de vespas sociais que sofrem mudança na condição fisiológica expressam essa mudança na composição química de sua cutícula (Tannure-Nascimento *et al.*, 2008), entretanto, a aplicação tópica de HJ não promoveu maior desenvolvimento ovariano em fêmeas adultas, ainda que haja uma tendência para isso, conforme demonstrado na Figura 03. Esses dados podem ser em parte explicados pelo baixo número amostral, o que pode ter impedido que diferenças entre os grupos fossem detectadas estatisticamente. Por outro lado, o número amostral relativamente baixo é justificado pela baixa densidade de imaturos em colônias desta espécie (Montagna *et al.*, 2010). A baixa densidade nesse caso interfere no número de larvas disponíveis para os tratamentos. Além disso, observações *in situ* revelaram que larvas tratadas em grande parte foram reconhecidas e agredidas por adultos que policiavam o ninho após os procedimentos de aplicação de HJ. Os atos agressivos que incluíam mordidas e mordiscadas foram suficientes para causar injúrias e a morte de várias

larvas tratadas, conduzindo para uma elevada taxa de mortalidade em cada um dos tratamentos.

Outra explicação plausível para a ausência de efeitos significativos do HJ sobre o grau de desenvolvimento ovariano das fêmeas tratadas é que os tratamentos foram feitos em colônias experimentais que estavam na fase inicial e ergonômica da pós-emergência, período esse marcado por forte dominância da rainha sobre suas subordinadas (Torres *et al.*, 2012). Esses resultados sugerem que a presença marcante da rainha na fase inicial da colônia experimental pode ter inibido o desenvolvimento ovariano das fêmeas tratadas. De fato, estudos que avaliaram parâmetros fisiológicos de fêmeas adultas em ambiente sem a presença da rainha demonstraram um aumento no desenvolvimento ovariano em resposta à ausência de efeitos supressivos (Tibbetts & Sheehan, 2012; Shukla *et al.*, 2013).

Portanto, esses resultados sugerem que a expressão de comportamentos de rainha em fêmeas adultas, pode estar intimamente associada a uma elevação nos títulos de HJ em período específico do desenvolvimento larval. De forma mais contundente, também sugerem que a determinação de casta nessa espécie pode ocorrer, ao menos em parte por conta de fatores que agem no estágio larval, corroborando evidências já apresentadas em outros trabalhos (Miyano, 1998; Suryanarayanan *et al.*, 2011). Por fim, estes resultados confirmam a hipótese de que a variação nos títulos de HJ em período específico do desenvolvimento larval pode levar a uma mudança na ontogenia comportamental, da mesma forma quanto a aplicação é feita em estágio adulto (Giray *et al.*, 2005; Shorter & Tibbetts, 2009).

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor. Ao FUNDECT pelo apoio financeiro (Proc. nº 23/200.767/2012). WFAJ agradece ao CNPq pela bolsa produtividade em pesquisa.

Referências

- Agrahari, M. & Gadagkar, R. 2003. Juvenile hormone accelerates ovarian development and does not affect age polyethism in the primitively eusocial wasp, *Ropalidia marginata*. *Journal of Insect Physiology* 49: 217-222.
- Amdam, G. V.; Norberg, K.; Fondrk, M. K. & Page-Junior, R. E. 2004. Reproductive ground plan may mediate colony-level selection effects on individual foraging behavior in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 101: 11350-11355.
- Antonialli-Junior, W. F. & Cruz-Landim, C. 2006. Effect of topical application of juvenile hormone on the occurrence of cell death in the larvae of honeybee (*Apis mellifera*). *Brazilian Journal of Morphological Sciences* 23: 377-383.
- Antonialli-Junior, W. F. & Cruz-Landim, C. 2009. Efeitos da aplicação tópica de hormônio juvenil sobre o desenvolvimento dos ovários de larvas de operárias de *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 53: 115-120.
- Bang, A. & Gadagkar, R. 2012. Reproductive queue without overt conflict in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 109: 14494-14499.
- Barth, R. H.; Lester, L. J.; Sroka, P.; Kessler, T. & Hearn, R. 1975. Juvenile hormone promotes dominance behavior and ovarian development in social wasps (*Polistes annularis*). *Experientia* 31: 691-692.
- Bohm, M. K. 1972. Effects of environment and juvenile hormone on ovaries of the wasp, *Polistes metricus*. *Journal of Insect Physiology* 18: 1875-1883.
- Bonavita-Cougourdan, A.; Theraulaz, G.; Bagnères, A-G.; Roux, M.; Pratte, M. ; Provost, E. & Clément, J-L. 1991. Cuticular hydrocarbons, social organization and ovarian

- development in a polistine wasp: *Polistes dominulus* Christ. Comparative Biochemistry and Physiology B 100: 667-680.
- Bridge, C. & Field, J. 2007. Queuing for dominance: gerontocracy and queue-jumping in the hover wasp *Liostenogaster flavolineata*. Behavioral Ecology and Sociobiology 61: 1253-1259.
- Bruyndonckx, N.; Kardile, S. P. & Gadagkar, R. 2006. Dominance behaviour and regulation of foraging in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata* (Lep.) (Hymenoptera: Vespidae). Behavioural Processes 72: 100-103.
- Cant, M. A. & Field, J. 2001. Helping effort and future fitness in cooperative animal societies. Proceedings of the Royal Society of London B 268: 1959-1964.
- Cervo, R. & Lorenzi, M. C. 1996. Behaviour in usurpers and late joiners of *Polistes biglumis bimaculatus* (Hymenoptera: Vespidae). Insectes Sociaux 43: 255-266.
- Cervo, R.; Dapporto, L.; Beani, L.; Strassmann, J. E. & Turillazzi, S. 2008. On status badges and quality signals in the paper wasp *Polistes dominulus*: body size, facial colour patterns and hierarchical rank. Proceedings of the Royal Society of London B 275: 1189-1196.
- Dani, F. R. 1994. Caste size differences in *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). Ethology Ecology & Evolution, Special Issue 3: 67-73.
- Dapporto, L.; Sledge, M. F. & Turillazzi, S. 2005. Dynamics of cuticular chemical profiles of *Polistes dominulus* workers in orphaned nests (Hymenoptera: Vespidae). Journal of Insect Physiology 51: 969-973.
- Dapporto, L.; Petrocelli, I. & Turillazzi, S. 2011. Incipient morphological castes in *Polistes gallicus* (Vespidae: Hymenoptera). Zoomorphology 130: 197-201.
- de Souza, A. R. & Prezoto, F. 2012. Regulation of worker activity in the social wasp *Polistes versicolor*. Insectes Sociaux 59: 193-199.

- Dietemann, V.; Peeters, C.; Liebig, J.; Thivet, V. & Hölldobler, B. 2003. Cuticular hydrocarbons mediate discrimination of reproductives and nonreproductives in the ant *Myrmecia gulosa*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 100: 10341-10346.
- Eickwort, K. 1969. Separation of the castes of *Polistes exclamans* and notes on its biology (Hym.: Vespidae). Insectes Sociaux 16: 67-72.
- Gadagkar, R.; Bhagavan, S.; Chandrashekara, K. & Vinutha, C. 1991. The role of larval nutrition in pre-imaginal biasing of caste in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata* (Hymenoptera, Vespidae). Ecological Entomology 16: 435-440.
- Giannotti, E. 1998. The colony cycle of the social wasp, *Mischocyttarus cerberus styx* Richards, 1940 (Hymenoptera: Vespidae). Revista Brasileira de Entomologia, 41: 217-224.
- Giray, T.; Giovanetti, M. & West-Eberhard, M. J. 2005. Juvenile hormone, reproduction, and worker behavior in the neotropical social wasp *Polistes canadensis*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 102: 3330-3335.
- Grechka, E. O. & Kipyatkov, V. Y. 1983. Seasonal developmental cycle and caste differentiation in the social wasp, *Polistes gallicus* L. (Hymenoptera: Vespidae). I. Phenology and life cycle regulation. Entomological Review 62: 19-31.
- Haggard, C. M. & Gamboa, G. J. 1980. Seasonal variation in body size and reproductive condition of a paper wasp, *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). The Canadian Entomologist 112: 239-248.
- Hartfelder, K. & Engels, W. 1998. Social insect polymorphism: hormonal regulation of plasticity in development and reproduction in the honeybee. Current Topics in Developmental Biology 40: 45-77.

- Haydak, M. H. 1943. Larval food and the development of castes in honeybee. *Journal of Economic Entomology* 36: 778-792.
- Hughes, C. R. & Strassmann, J. E. 1988. Age is more important than size in determining dominance among workers in the primitively eusocial wasp, *Polistes instabilis*. *Behaviour* 107: 1-14.
- Hunt, J. H. 2006. Evolution of caste in *Polistes*. *Annales Zoologici Fennici* 43: 407-422.
- Hunt, J. H.; Mutti, N. S.; Havukainen, H.; Henshaw, M. T. & Amdam, G. V. 2011. Development of an RNA interference tool, characterization of its target, and an ecological test of caste differentiation in the eusocial wasp *Polistes*. *PLoS ONE* 6: e26641.
- Ishay, J. 1975. Caste determination by social wasps: cell size and building behaviour. *Animal Behaviour* 23: 425-431.
- Ishikawa, Y.; Yamada, Y. Y.; Matsuura, M.; Tsukada, M. & Tsuchida, K. 2010. Dominance hierarchy among workers changes with colony development in *Polistes japonicus* (Hymenoptera: Vespidae) paper wasp colonies with a small number of workers. *Insectes Sociaux* 57: 465-475.
- Ishikawa, Y.; Yamada, Y. Y.; Matsuura, M.; Tsukada, M. & Tsuchida, K. 2011. *Polistes japonicus* (Hymenoptera: Vespidae) queens monopolize ovipositing but are not the most active aggressor in dominant-subordinate interactions. *Insectes Sociaux* 58: 519-529.
- Jeanne, R. L. 1972. Social biology of the neotropical wasp *Mischocyttarus drewseni*. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 144: 63-150.
- Jeanne, R. L. 1991. The swarm-founding Polistinae. In K.G. Ross & R.W. Matthews (editors), *The social biology of wasps*, pp. 191–231. Ithaca, NY: Cornell University Press, xvii+678pp.

- Judd, T. M.; Magnus, R. M. & Fasnacht, M. P. 2010. A nutritional profile of the social wasp *Polistes metricus*: differences in nutrient levels between castes and changes within castes during the annual life cycle. *Journal of Insect Physiology* 56: 42-56.
- Julian, G. E.; Fewell, J. H.; Gadau, J.; Johnson, R. A. & Larrabee, D. 2002. Genetic determination of the queen caste in an ant hybrid zone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 99: 8157-8160.
- Karsai, I. & Hunt, J. H. 2002. Food quantity affects traits of offspring in the paper wasp *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *Environmental Entomology* 31: 99-106.
- Keeping, M. G. 1997. Social behavior and brood decline in reproductive-phase colonies of *Belonogaster petiolata* (Degeer) (Hymenoptera: Vespidae). *Journal of Insect Behavior* 10: 265-278.
- Keeping, M. G. 2002. Reproductive and worker castes in the primitively eusocial wasp *Belonogaster petiolata* (DeGeer) (Hymenoptera: Vespidae): evidence for pre-imaginal differentiation. *Journal of Insect Physiology* 48: 867-879.
- Lattorff, H. M. G. & Moritz, R. F. A. 2013. Genetic underpinnings of division of labor in the honeybee (*Apis mellifera*). *Trends in Genetics* 29: 641-648.
- Liebert, A. E.; Hui, J.; Nonacs, P. & Starks, P. T. 2008. Extreme polygyny: multi-seasonal “hypergynous” nesting in the introduced paper wasp *Polistes dominulus*. *Journal of Insect Behavior* 21: 72-81.
- Markiewicz, D. A. & O' Donnell, S. 2001. Social dominance, task performance and nutrition: implications for reproduction in eusocial wasps. *Journal of Comparative Physiology A* 187: 327-333.
- Miyano, S. 1983. Number of offspring and seasonal changes of their body weight in a paperwasp, *Polistes chinensis antennalis* Pérez (Hymenoptera: Vespidae), with

- reference to male production by workers. *Researches on Population Ecology* 25: 198-209.
- Miyano, S. 1998. Amount of flesh food influences the number, larval duration, and body size of first brood workers, in a Japanese paper wasp, *Polistes chinensis antennalis* (Hymenoptera: Vespidae). *Entomological Science* 1: 545-549.
- Molina, Y. & O' Donnell, S. 2007. Mushroom body volume is related to social aggression and ovary development in the paperwasp *Polistes instabilis*. *Brain, Behavior and Evolution* 70: 137-144.
- Molina, Y. & O' Donnell, S. 2008. A developmental test of the dominance-nutrition hypothesis: linking adult feeding, aggression, and reproductive potential in the paperwasp *Mischocyttarus mastigophorus*. *Ethology Ecology & Evolution* 20: 125-139.
- Molina, Y. & O' Donnell, S. 2009. Worker reproductive competition affects division of labor in a primitively social paperwasp (*Polistes instabilis*). *Insectes Sociaux* 56: 14-20.
- Monnin, T. & Peeters, C. 1999. Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. *Behavioral Ecology* 10: 323-332.
- Montagna, T. S., Torres, V. O. Fernandes, W. D. & Antonialli-Junior, W. F. 2010. Nest architecture, colony productivity, and duration of immature stages in a social wasp, *Mischocyttarus consimilis*. *Journal of Insect Science* 10: 191.
- O' Donnell, S. 1995. Division of labor in post-emergence colonies of the primitively eusocial wasp *Polistes instabilis* de Saussure (Hymenoptera: Vespidae). *Insectes Sociaux* 42: 17-29.
- O' Donnell, S. 1996. Reproductive potential and division of labor in wasps: are queen and worker behavior alternative strategies? *Ethology Ecology & Evolution* 8: 305-308.
- O' Donnell, S. 1998. Reproductive caste determination in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Annual Reviews of Entomology* 43: 323-446.

- Pardi, L. 1948. Dominance order in *Polistes* wasps. *Physiological Zoology* 21: 1-13.
- Penick, C. A.; Prager, S. S. & Liebig, J. 2012. Juvenile hormone induces queen development in late-stage larvae of the ant *Harpegnathos saltator*. *Journal of Insect Physiology* 58: 1643-1649.
- Petrocelli, I. & Turillazzi, S. 2013. The morphology of Van der Vecch's organ as a tool to measure caste dimorphism in *Polistes* paper wasps: a comparative approach. *Journal Zoological Systematics and Evolutionary Research* 51: 274-278.
- Premnath, S.; Sinha, A. & Gadagkar, R. 1995. Regulation of worker activity in a primitively eusocial wasp, *Ropalidia marginata*. *Behavioral Ecology* 6: 117-123.
- Reeve, H. K. & Gamboa, G. J. 1983. Colony activity integration in primitively eusocial wasps: the role of the queen (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 13: 63-74.
- Robinson, G. E. 1992. Regulation of division of labor in insect societies. *Annual Reviews of Entomology* 37: 637-665.
- Röseler, P-F. 1977. Juvenile hormone control of oögenesis in bumblebee workers, *Bombus terrestris*. *Journal of Insect Physiology* 23: 985-992.
- Röseler, P-F.; Röseler, I. & Strambi, A. 1980. The activity of corpora allata in dominant and subordinated females of the wasp *Polistes gallicus*. *Insectes Sociaux* 27: 97-107.
- Röseler, P-F.; Röseler, I.; Strambi, A. & Augier, R. 1984. Influence of insect hormones on the establishment of dominance hierarchies among foundresses of the paper wasp, *Polistes gallicus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 15: 133-142.
- Schmidt, K. C.; Hunt, B. G. & Smith, C. R. 2012. Queen, worker, and male yellowjacket wasps receive different nutrition during development. *Insectes Sociaux* 59: 289-295.
- Schwander, T.; Lo, N.; Beekman, M.; Oldroyd, B. P. & Keller, L. 2010. Nature versus nurture in social insect caste differentiation. *Trends in Ecology and Evolution* 25: 275-282.

- Shorter, J. R. & Tibbetts, E. A. 2009. The effect of juvenile hormone on temporal polyethism in the paper wasp *Polistes dominulus*. *Insectes Sociaux* 56: 7-13.
- Shukla, S.; Shilpa, M. C. & Gadagkar, R. 2013. Virgin wasps develop ovaries on par with mated females, but lay fewer eggs. *Insectes Sociaux* 60: 345-350.
- Sledge, M. F.; Boscaro, F. & Turillazzi, S. 2001. Cuticular hydrocarbons and reproductive status in the social wasp *Polistes dominulus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 49: 401-409.
- Sledge, M. F.; Trinca, I.; Massolo, A.; Boscaro, F. & Turillazzi, S. 2004. Variation in cuticular hydrocarbon signatures, hormonal correlates and establishment of reproductive dominance in a polistine wasp. *Journal of Insect Physiology* 50: 73-83.
- Smith, C. R.; Toth, A. L.; Suarez, A. V. & Robinson, G. E. 2008a. Genetic and genomic analyses of the division of labour in insect societies. *Nature Reviews Genetics* 9: 735-748.
- Smith, C. R.; Anderson, K. E.; Tillberg, C. V.; Gadau, J. & Suarez, A. V. 2008b. Caste determination in a polymorphic social insect: nutritional, social, and genetic factors. *The American Naturalist* 172: 497-507.
- Sramkova, A.; Schulz, C.; Twele, R.; Francke, W. & Ayasse, M. 2008. Fertility signals in the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Naturwissenschaften* 95: 515-522.
- Strassmann, J. E. & Meyer, D. C. 1983. Gerontocracy in the social wasp, *Polistes exclamans*. *Animal Behaviour* 31: 431-438.
- Suryanarayanan, S. & Jeanne, R. L. 2008. Antennal drumming, trophallaxis, and colony development in the social wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology* 114: 1201-1209.

- Suryanarayanan, S.; Hantschel, A. E.; Torres, C. G. & Jeanne, R. L. 2011. Changes in the temporal pattern of antennal drumming behavior across the *Polistes fuscatus* colony cycle (Hymenoptera: Vespidae). *Insectes Sociaux* 58: 97-106.
- Tannure-Nascimento, I. C.; Nascimento, F. S. & Zucchi, R. 2008. The look of royalty: visual and odour signals of reproductive status in a paper wasp. *Proceedings of the Royal Society of London B* 275: 2555-2561.
- Tibbetts, E. A. & Sheehan, M. J. 2012. The effect of juvenile hormone on *Polistes* wasp fertility varies with cooperative behavior. *Hormones and Behavior* 61: 559-564.
- Torres, V. O.; Montagna, T. S.; Raizer, J. & Antonialli-Junior, W. F. 2012. Division of labor in colonies of the eusocial wasp, *Mischocyttarus consimilis*. *Journal of Insect Science* 12: 21.
- Toth, A. L.; Kantarovich, S.; Meisel, A. F. & Robinson, G. E. 2005. Nutritional status influences socially regulated foraging ontogeny in honey bees. *The Journal of Experimental Biology* 208: 4641-4649.
- Turillazzi, S. 1980. Seasonal variations in the size and anatomy of *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). *Monitore Zoologico Italiano - Italian Journal of Zoology* 14: 63-75.
- Turillazzi, S. & Pardi, L. 1977. Body size and hierarchy in polygynic nests of *Polistes gallicus* (L.) (Hymenoptera: Vespidae). *Monitore Zoologico Italiano - Italian Journal of Zoology* 11: 101-112.
- van Doorn, A. & Heringa, J. 1986. The ontogeny of a dominance hierarchy in colonies of the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Insectes Sociaux* 33: 3-25.
- West-Eberhard, M. J. 1969. The social biology of Polistine wasps. Michigan, Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan, n° 140. 101pp.

- West-Eberhard, M. J. 1986. Dominance relations in *Polistes canadensis* (L.), a tropical social wasp. *Monitore Zoologico Italiano - Italian Journal of Zoology* 20: 263-281.
- Wheeler, D. E. 1986. Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *The American Naturalist* 128: 13-34.
- Winston, M. L. 1987. *The biology of the honey bee*. Cambridge, MA: Harvard University Press. 296pp.

Tabela 01. Valores (média±DP) para parâmetros comportamentais e fisiológicos de fêmeas adultas que foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais, baseado em dados de quatro colônias experimentais de *Mischocyttarus consimilis*.

Tratamento	Proporção de tempo presente no ninho (%)		No. de atos agressivos recebidos por uma hora de presença no ninho		Índice de desenvolvimento ovariano	
	Média	(±DP)	Média	(±DP)	Média	(±DP)
Controle	16,0	20,1	23,3	15,1	0,40	0,14
3°-instar (HJ)	53,6	32,9	2,6	1,0	0,56	0,28
4°-instar (HJ)	19,8	18,8	9,7	7,9	0,45	0,07
5°-instar (HJ)	36,1	21,8	10,3	7,4	0,66	0,37

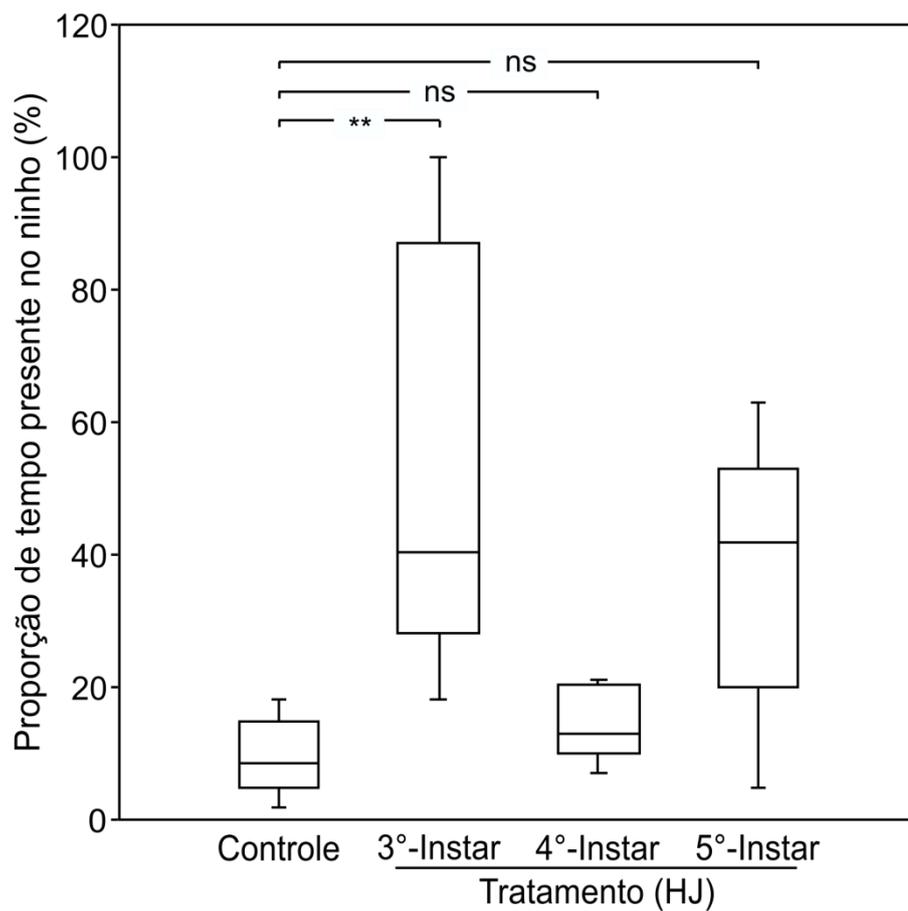


Fig. 01. Proporção de tempo presente no ninho (%) por fêmeas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. *Box-plot* representa a mediana, 25-75% percentis e intervalo mínimo/máximo. ** ($p < 0,01$); ns ($p > 0,05$), após correção de Bonferroni.

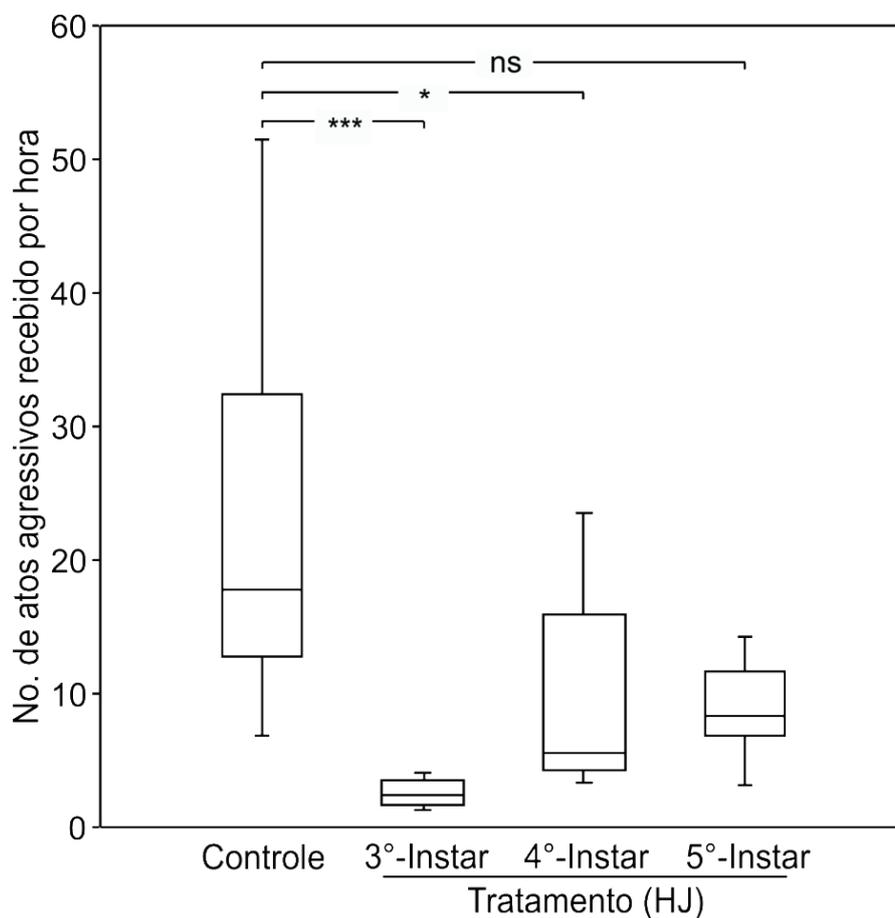


Fig. 02. Número de atos agressivos recebidos por hora de presença no ninho por fêmeas de *Mischoctytarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. *Box-plot* representa a mediana, 25-75% percentis e intervalo mínimo/máximo. *** ($p < 0,001$); * ($p < 0,05$); ns ($p > 0,05$), após correção de Bonferroni.

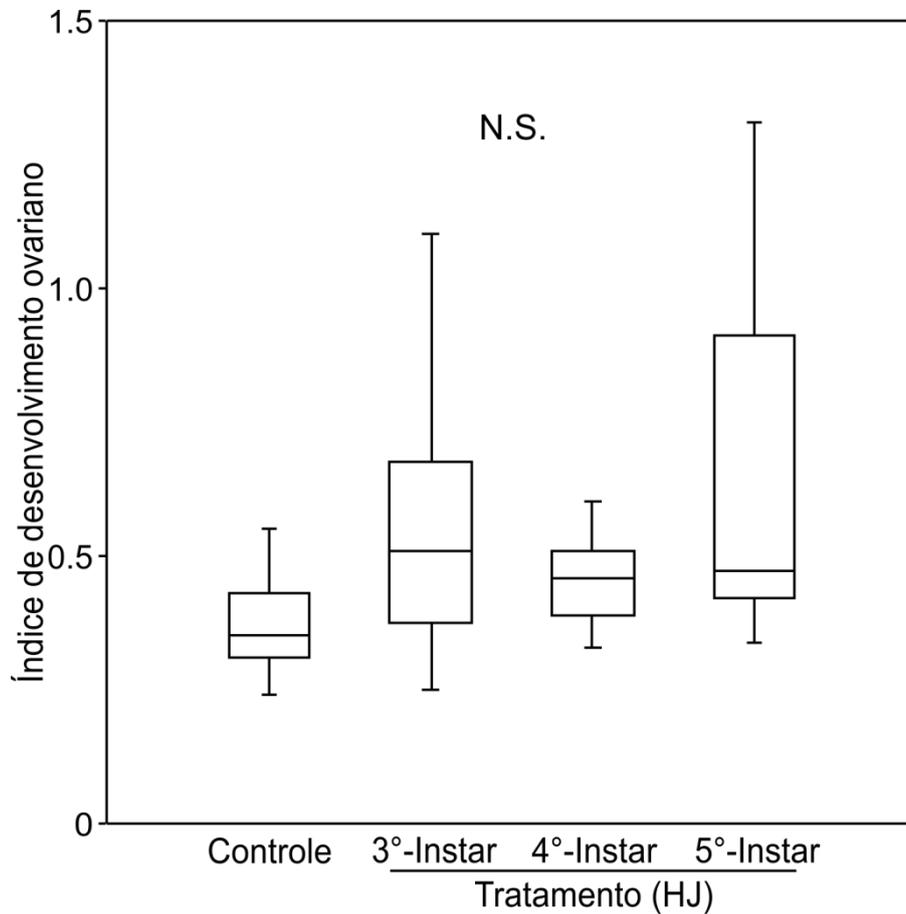


Fig. 03. Comprimento médio dos ovócitos terminais de fêmeas de *Mischocyttarus consimilis*, cujas larvas foram tratadas com hormônio juvenil (HJ) em diferentes instares larvais. *Box-plot* representa a média, 25-75% percentis e intervalo mínimo/máximo. N.S. indica diferença não significativa ($p>0,05$).

Capítulo V

Considerações Finais

Considerações Finais

Nesse estudo foram investigados os fatores que afetam as estratégias reprodutivas de fundadoras, variações fenotípicas entre operárias e gines, bem como, o efeito da manipulação dos títulos de hormônio juvenil (HJ) em larvas na expressão de características morfológicas, comportamentais e fisiológicas em fêmeas adultas de *Mischocyttarus consimilis*.

Análises comparativas apontam que o tamanho do corpo e o status reprodutivo variam entre as fundadoras adotando estratégias reprodutivas distintas. Fundadoras alfas em fundações pleométricas são significativamente maiores que as fundadoras auxiliares, entretanto, não diferem em tamanho das fundadoras solitárias. Fundadoras maiores apresentam maior desenvolvimento ovariano que fundadoras menores, de forma que é possível estabelecer uma relação positiva entre o tamanho do corpo e desenvolvimento ovariano entre essas fêmeas. Esses dados sugerem que o investimento em desenvolvimento ovariano nessa espécie pode estar intimamente associado ao tamanho do corpo da fundadora. Além disso, fêmeas produzidas ao longo do ciclo colonial variam em tamanho, de forma que fêmeas emergindo em colônias maduras, supostamente gines, são comparavelmente maiores que fêmeas emergindo em colônias iniciais.

Resultado da manipulação dos títulos hormonais por aplicação tópica pré-imaginal demonstrou que fêmeas adultas que emergiram de larvas tratadas com HJ no terceiro instar foram significativamente maiores que as fêmeas sem tratamento. Esses resultados sugerem que o HJ pode desempenhar uma função importante na determinação de castas pré-imaginal em vespas sociais de fundação independente, afetando, sobretudo, o tamanho do corpo, sendo o terceiro instar larval o estágio mais crítico para às ações decisivas desse hormônio. Da mesma forma, sugerem que o HJ tem um papel decisivo na determinação de casta pré-imaginal em vespas sociais de fundação independente e, que seu efeito é instar-dependente.

No entanto, a elevação dos títulos de HJ em larvas não afetou o tempo de desenvolvimento imaturo, assim como, não promoveu o aparecimento de ovócito pré-vitelogênico em fêmeas recém-emergidas. Esses dados sugerem que a elevação dos títulos de HJ não deve afetar o desenvolvimento ovariano em um estágio pré-adulto, bem como evidencia que o investimento em fisiologia reprodutiva nessa espécie ocorre, sobretudo na fase adulta.

Por outro lado, foi demonstrado que o fenótipo comportamental de fêmeas adultas é afetado pela manipulação hormonal. Fêmeas que emergiram de larvas tratadas com HJ no terceiro instar permaneceram significativamente mais tempo na colônia, bem como receberam menos agressão física das companheiras de ninho. Estes resultados reforçam a hipótese de que diferenças nos atributos fenotípicos entre as castas em vespas sociais de fundação independente são fixados pré-imaginalmente e possivelmente controlados por alimentação diferencial e títulos de HJ. Além disso, esses resultados apresentam evidências de que a elevação dos títulos de HJ em período específico do desenvolvimento larval pode conduzir fêmeas tratadas a expressar durante o início da vida adulta comportamento característico de rainhas.

O desenvolvimento ovariano de fêmeas adultas não foi afetado pela aplicação tópica pré-imaginal de HJ. Uma explicação plausível para esse resultado pode estar no fato de que colônias experimentais utilizadas nesse estudo estavam na fase inicial e ergonômica da pós-emergência, período esse marcado por forte dominância da rainha sobre suas subordinadas. Fêmeas que emergiram nessas condições ainda que com fenótipo de gines poderiam ter seu desenvolvimento ovariano inibido pela rainha. Entretanto, estudos futuros são necessários para esclarecer o grau de interferência da rainha sobre a fisiologia reprodutiva de potenciais reprodutoras. Em conclusão, esses resultados somados apresentam evidências de que ao

menos em parte a determinação de casta em vespas sociais menos derivadas deve ocorrer em um estágio pré-imaginal.