UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

Comportamento, atividade e interações sociais entre rainhas e operárias de
Metapolybia docilis (Vespidae: Polistinae: Epiponini).

Laura Elena Chavarría Pizarro

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como
parte das exigências para a obtenção do título de
Mestre em Ciências, Área: Entomologia

RIBEIRÃO PRETO-SP

2009

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

Comportamento, atividade e interações sociais entre rainhas e operárias de
Metapolybia docilis (Vespidae: Polistinae: Epiponini).

Laura Elena Chavarría Pizarro

Orientador: Prof. Dr. Fernando Barbosa Noll

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte
das exigências para a obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área: Entomologia

RIBEIRÃO PRETO-SP

2009

Chavarría, Laura Elena Pizarro

Comportamento, atividade e interações sociais entre rainhas e operárias de
Metapolybia docilis (Vespidae: Polistinae: Epiponini), 2009.

59 p. : il. ; 30cm

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/ USP. Área de Concentração: Entomologia.

Orientador: Noll, Fernando Barbosa.

1. Vespas sociais 2. Rainhas 3. Operárias 4. Comportamento 5. Morfometria

Dedicatória

*A meus pais Roxana e Héctor
obrigada pelo grande amor que me
inspira e guia a continuar
caminhando. Gracias los amo.
Ao meu querido país,
Costa Rica.*

Agradecimentos

Aos meus pais Roxana e Héctor sem seu apoio eu não sei o que faria. Obrigada por continuar do meu lado e ajudar-me a acreditar que aquela fábrica dos sonhos ainda existe.

Ao meu orientador Fernando Barbosa Noll, muito obrigado pela oportunidade de trabalhar com você, pelos ensinamentos, amizade, paciência, ajuda e confiança. Você é um grande professor.

À Organização dos Estados Americanos (OEA) pela bolsa outorgada para realizar os estudos de mestrado. À comissão nacional de incentivos do Ministério da Ciência e Tecnologia (MICIT) e o Conselho Nacional para Pesquisa Científica e Tecnológica (CONICIT) do governo da Costa Rica pela ajuda financeira outorgada durante o mestrado. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq) pela bolsa concedida durante o primeiro semestre do mestrado. À Fapesp pelo apoio financeiro para realizar a viagem ao Maranhão (2007/08633-1).

Ao Sidnei Mateus por toda a sua ajuda, colaboração e amizade durante minha permanência em Ribeirão. À Gisele Garcia por toda a ajuda e amizade oferecidas durante a permanência no Maranhão. Ao John Wenzel pelas sugestões, amizade e ajuda nas análises estatísticas.

A todos meus colegas do laboratório pela recepção e amizade. Agradeço especialmente ao Otávio Augusto Lima de Oliveira pela companhia e ajuda oferecida durante a viagem ao Maranhão. Ao Luiz Fernando Gelin pela grande amizade e ajuda durante a elaboração da dissertação. Ao Getulio (por toda sua ajuda) e Luiz Fernando pela ajuda na toma das medidas morfométricas. Ao Sergio pelas sugestões, companhia, compreensão e pelo grande carinho que faz me sentir em casa. A Simony pela grande amizade, companhia e os muitos risos. E aos meus outros amigos pela amizade e apoio emocional: Rodrigo, Ana Carolina, Cíntia, Fabiana, Luciano, Lourdes e Mirko.

Aos meus amigos da Costa Rica que sempre estão comigo: minha irmã Tania, Marcia, Denis, Laura e Nadia. Ao Athos meu anjo da guarda por cuidar de mim e estar sempre comigo.

Resumo

As sociedades de vespas da tribo Epiponini caracterizam-se pela variação no número de rainhas durante o ciclo colonial, o que implica na ocorrência cíclica de muitas rainhas (poliginia), poucas (oligoginia) e até uma rainha (monoginia). Durante as primeiras fases do ciclo colonial existe um número maior de rainhas, mas conforme a colônia cresce, o número de rainhas diminui. Os Epiponini também são caracterizados pela complexidade morfológica e as síndromes de diferenciação de castas. Entretanto, para algumas espécies dentro dos Polistinae, a única forma de separar as fêmeas reprodutoras das não reprodutoras é pelo comportamento ou pelo grau de desenvolvimento dos ovários. O estudo do comportamento e as interações sociais junto com os estudos morfométricos podem ajudar no entendimento da evolução da complexidade encontrada dentro dos Epiponini. Por isso o objetivo deste trabalho é descrever o comportamento das rainhas e operárias em *Metapolybia docilis*, e suas interações. Foram realizadas observações individuais do comportamento das rainhas e operárias previamente marcadas de quatro colônias de *M. docilis*. Foi feito um catálogo dos atos comportamentais observados com maior frequência. Para as rainhas os comportamentos incluíam tanto *displays* como comportamentos relacionados às necessidades básicas como alimentação e higiene, nas operárias os comportamentos incluíam principalmente trabalhos de manutenção do ninho e policiamento. Para realizar as análises morfométricas todos os indivíduos das colônias C1, C2 e C3 foram coletados, foi determinada a idade dos indivíduos da colônia e oito medidas corporais externas foram tomadas de uma amostra de 50 operárias e de todas as rainhas das colônias. A colônia C1 estava em Fase Matura, a colônia C2 em Fase de Pré- Enxameagem, as colônias C3 e C4 em Fase de Estabelecimento. Os comportamentos realizados com maior frequência pelas rainhas das quatro colônias foram: curvar o abdômen (CA), dança de display (DD), inspeção de célula (IC), trofalaxia (Tx) e auto-limpeza (Limp). Os comportamentos realizados com maior frequência pelas operárias foram IC e Tx.

O comportamento CA provavelmente é um comportamento *display* de dominância feito pelas rainhas e o comportamento DD provavelmente está ligado a interações competitivas ou de dominância entre as fêmeas das colônias. Não foi encontrada diferenciação morfológica significativa entre rainhas e operárias de *M. docilis* para as colônias C2 e C3, mas sim para a colônia C1. Dentro das colônias estudadas o controle na reprodução das fêmeas é feito mediante o comportamento e não por manipulação larval. As operárias e as rainhas testam a capacidade reprodutiva das outras rainhas mediante *displays* de dominância não agressivos para decidir que fêmeas continuaram encarregando-se de produzir novos indivíduos. As operárias possivelmente controlam a reprodução (mediante o policiamento de ovos), seleção das rainhas, e todos os outros aspectos dentro da colônia explorando o ambiente e as necessidades do ninho.

Abstract

Epiponini wasps' societies are characterized by the alternation in the number of queens from many (polygyny) to few queens (olygyny) or even one (monogyny) during the colony cycle. When the colony is in the growing phase there are many queens, but as colony grows queen number decreases and new queens will be produced only when queen number is close to one (monogyny). Epiponines wasps are also characterized by the complexity of the morphological caste syndromes. However, in some Epiponini species the only way to separate reproductives from not reproductives is by behavioral acts or by the degree of ovarian development. The study of behavior and social interactions, associated with morphometric studies, could help to better understand the evolution and complexity found within the Epiponini. We studied and described behavioral acts and interactions between queens and workers in *Metapolybia docilis*. We performed direct and indirect (video) observations of individual behavior of previously marked queens and workers from four *M. docilis* colonies. We catalogued the most frequently observed behavioral acts: for queens these behaviors included displays and basic need behaviors such as feeding and hygiene; for workers they included nest maintenance and policing behaviors. All the individuals from colonies C1, C2 and C3 were collected to perform a morphometric analysis and age determination by taking eight external body measurements from a 50 workers' sample and from all the queens of the colonies. Colony C1 was in an Emergence phase, colony C2 in a pre-swarming phase, colonies C3 and C4 in a pre-emergence phase. Most frequently behaviors made by queens were bending abdomen (BA), dance display (DD), cell inspection (CI), trofalaxis (Tx) and grooming (G). Most frequently behaviors made by workers were IC and Tx. Bending abdomen (BA) is probably a dominance display made by queens, and dance display (DD) was probably a test behavior made by workers and queens to test another queens. For colonies C2 and C3 there is no morphological differences between queens and workers, but

there is a slight difference for colony C1. Within the colonies, the reproduction control is performed by behavior and not by larval manipulation because we did not find morphological differences between castes. Workers and queens tested the reproductive capacity of the queens by non aggressive dominance displays in order to select which females perform the reproduction work in the colony. Workers probably control the reproduction (by worker policing on the eggs laid), queen selection and all the others tasks on the colony by scanning the environment and the needs of the colony.

Sumário

Introdução	1
Objetivos	5
Materiais e Métodos.....	6
Análises Comportamentais.....	6
Análises Morfométricas.....	14
Resultados.....	17
Descrição dos ninhos e Ciclo Colonial.....	17
Análises Comportamentais.....	23
Rainhas.....	23
Operárias.....	32
Diferenças morfológicas entre Rainhas e Operárias.....	41
Discussão.....	46
Comportamento e Ciclo Colonial.....	46
Diferenças morfológicas entre Rainhas e Operárias	52
Referências Bibliográficas.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Frequência dos comportamentos inspeção de célula (IC), trofalaxia (Tx), auto limpeza (Limp), forrageio (Forrg), construção do envelope (CE), investir (Arr), limpeza fêmeas (Acc), revestir célula (RC), defesa (Df), aumentar célula (AC) e ociosidade (N) em todas as operárias das colônias C1, C2, C3 e C4.....	34
Tabela 2. Variáveis morfométricas (mm) discriminatórias entre as fêmeas das colônias C1 e C2 segundo a Análise Discriminante.....	42
Tabela 3. Média e desvio padrão (mm) para as medidas variáveis entre rainhas e operárias das colônias C1 e C2.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Medidas morfométricas tomadas das fêmeas das colônias C1, C2 e C3 de <i>Metapolybia docilis</i>	16
Figura 2. Ninho da colônia C1 de <i>M. docilis</i> na Reserva da Merck no Maranhão.....	19
Figura 3. Ninho da colônia C3 de <i>M. docilis</i> na Reserva de Urbano Santos no Maranhão	20
Figura 4. Ninho da colônia C4 de <i>M. docilis</i> na Reserva de Urbano Santos no Maranhão	21
Figura 5. Percentagem de fêmeas em relação à idade relativa para as colônias C1, C2 e C3 de <i>M. docilis</i> (T= amarelo claro, MC= marrom claro, M= marrom, PL= preto linha delgada, PG= preto linha grossa).....	22

Figura 6. Frequência dos comportamentos (CA= curvar abdômen, DD= dança de display, IC= inspeção da célula, Tx= trofalaxia, Limp= auto limpeza) nas rainhas das colônias C1, C2, C3 e C4 de <i>M. docilis</i>	25
Figura 7. Frequência do comportamento CA (curvar abdômen) por hora de observação nas C1, C2, C3 e C4 de <i>M. docilis</i>	26
Figura 8. Duração média (segundos) do comportamento CA (curvar abdômen) nas colônias C1, C2, C3 e C4 de <i>M. docilis</i>	26
Figura 9. Frequência do comportamento CA (curvar abdômen) nas rainhas das colônias C1 e C2 de <i>M. docilis</i> frente aos comportamentos estimulantes (IC= inspeção da célula próxima da rainha, DDC= dança de display próxima, OAC= antenando próxima, OPC= passando próxima, RaC= rainha próxima)	29
Figura 10. Frequência do comportamento DD (dança de display) por hora de observação para as colônias C1 e C2 de <i>M. docilis</i>	30
Figura 11. Duração média (segundos) do comportamento DD (dança de display) para as colônias C1 e C2 de <i>M. docilis</i>	30
Figura 12. Tempo médio investido pelas três rainhas da C1 de <i>M. docilis</i> nos principais comportamentos observados (DD= dança de display, Tx= trofalaxia, IC= inspeção da célula, Limp= auto limpeza, CA= curvar abdômen).....	31
Figura 13. Média de células revisadas pelas operárias das colônias C1, C2, C3 e C4 para <i>M. docilis</i>	37
Figura 14. Duração média (segundos) da inspeção das células (IC) para as operárias das colônias C1, C2, C3 e C4 de <i>M. docilis</i>	38
Figura 15. Frequência do comportamento trofalaxia- trofalaxia das operárias com as fêmeas dentro dos ninhos nas colônias C1, C2, C3 e C4 para <i>M. docilis</i>	39

Figura 16. Quantidade de forrageadoras que carregaram material sólido ou líquido nas colônias C1, C2, C3 e C4 de *M. docilis*39

Figura 17. Comportamentos realizados pelas forrageadoras (IC= inspeção da célula, CE/AC= construir envelope ou aumentar célula, Arr= investir, Acc= limpeza fêmea, RMt/Rliq= repartir polpa ou líquido, Df= defesa) dentro do ninho para as colônias C1, C2, C3 e C4 de *M. docilis*.

Introdução

Dentro dos Hymenoptera existem diferentes níveis de organização social, desde o solitário, passando pelos primitivamente eussociais (como as vespas do gênero *Polistes* e *Mischocyttarus*) até insetos altamente sociais como as formigas e as abelhas *Apis mellifera*. Nos neotrópicos existem mais de três mil espécies de Hymenoptera eussociais que incluem as formigas, algumas abelhas da subfamília Halictinae, das tribos Bombini, Meliponini e Apini, assim como as vespas da subfamília Vespinae e Polistinae, e um gênero da família Cabronidae (Pemphredoninae: *Microstigmus*) (Michener 2000, Hanson & Gould, 2006).

Como nos demais Hymenoptera a família Vespidae também apresenta diferentes níveis de organização social, desde grupos com comportamentos solitários (Euparagiine e Eumeninae) e subsociais (algumas espécies de Masarinae e Stenogastrinae), até grupos com comportamento eussocial (Polistinae e Vespinae) (Carpenter, 1982). Entretanto, somente os membros da tribo Epiponini e alguns Ropalidiini são considerados altamente eussociais (Mateus, 2005).

A fundação independente implica na fundação da colônia por uma fêmea inseminada, mas nos gêneros *Provespa* (Vespinae), *Ropalidia* e *Polybioides* (Ropalidini), e em todos os gêneros da tribo Epiponini, a fundação das colônias é feita por exames onde um grande número de indivíduos incluindo operárias e rainhas separam-se de maneira sincronizada da colônia original para fundar uma nova (West-Eberhard, 1982).

As espécies da tribo Epiponini caracterizam-se pela variação no número de rainhas durante o ciclo colonial que implica na ocorrência inicial de muitas rainhas (poliginia), passando para poucas (oligoginia) e somente uma rainha (monoginia) (West-Eberhard, 1978) em alguns casos. Durante as primeiras fases do ciclo colonial existe um número maior de rainhas, pois o ciclo tem início com um processo de crescimento populacional. Durante a fase pré-emergente os imaturos são muito jovens (muitos ovos e poucas larvas), mas durante a fase emergente e durante as outras fases do ciclo quando a colônia cresce o número de rainhas diminui (Noll & Zucchi, 2000, 2002). As novas rainhas não serão produzidas até a fase reprodutiva onde o número reduz para próximo de um (West- Eberhard, 1978; Noll & Zucchi, 2000, 2002).

Os Epiponini também são caracterizados pela complexidade morfológica e as síndromes de diferenciação de castas (Noll et al., 2004) se comparadas aos outros Vespidae. De fato segundo Noll & Wenzel (2008) as diferenças morfométricas em Epiponini não podem ser explicadas por uma única hipótese envolvendo alometria como em outros insetos sociais, pois as castas têm evoluído de diferentes formas nas diferentes linhagens dessa tribo, uma vez que devem existir diferentes estratégias reprodutivas (Noll & Zucchi, 2002). Por exemplo, em algumas espécies da tribo têm sido encontradas rainhas e operárias significativamente distintas em suas proporções corporais e pouco no tamanho geral, indicando determinação pré-imaginal das castas não baseada exclusivamente no tamanho corporal (*Pseudopolybia difficilis* Jeanne, 1996; *Apoica pallens* Jeanne et al., 1995; várias espécies de *Agelaia* e *Polybia* entre outros gêneros Noll et al., 2004; Noll & Wenzel, 2008). Entretanto, essa diferenciação pré-imaginal não está presente em todos os epiponíneos, pois foi identificada diferenciação de castas após o período larval (pós-imaginal) nos gêneros

Parachartergus (Strassmann et al., 2002; Mateus et al., 2004) e *Angiopolybia pallens* (Gelin et al. 2008). Devido à variação encontrada dentro das espécies de Epiponini, Noll et al. (2004) propõem quatro síndromes de discriminação de castas: 1) sem casta (onde não há diferenças no tamanho ou forma associados com a reprodução); 2) castas fisiológicas somente; 3) rainhas maiores, mas com a mesma forma; 4) rainhas com formas diferentes.

A complexidade das síndromes de diferenciação de castas, e das interações sociais torna Epiponini um grupo de grande interesse para o estudo da evolução da socialidade dentro dos Hymenoptera, pois embora essa tribo não apresente algumas características de outros insetos sociais avançados, como acentuada diferenciação morfológica de castas e polimorfismo entre as operárias (Bourke, 1999), são considerados insetos altamente sociais, mas com distintos padrões de organização social. Por exemplo, a divisão do trabalho dentro dos ninhos de Epiponini pode estar associada às mudanças do comportamento em relação à idade (polietismo), e à especialização individual das tarefas (devida às interações entre as operárias que exploram continuamente o ambiente e às necessidades da colônia), e não com polimorfismos (Karsai e Wenzel 2000). Segundo Karsai e Wenzel (2000) as operárias dentro de Epiponini apresentam uma alta flexibilidade para realizar diferentes tarefas uma vez que as decisões são tomadas num contexto social, e não num contexto de grupos pré-determinados em comportamentos específicos.

Também segundo Bourke (1999), as sociedades mais complexas dentro dos insetos eussociais apresentam colônias com maiores tamanhos populacionais. Ele sugere que o tamanho da colônia influi na complexidade das relações entre rainhas e operárias, pois em sociedades pequenas as operárias testam com maior frequência as

rainhas do que em sociedades maiores, uma vez que a chance de uma operária tornar-se rainha é maior por existir menos competidoras para substituí-la. Entretanto, dentro dos Epiponini a complexidade das interações pode estar mais relacionada com outros aspectos como o ciclo colonial, uma vez que já foram estudadas espécies com interações sociais complexas que formam colônias pequenas (West-Eberhard, 1978; Mateus, 2005). Durante algumas fases do ciclo colonial as operárias podem suprimir a produção de novas rainhas dentro da colônia para aumentar o parentesco entre as rainhas velhas e sua progênie (operárias), o que poderia levar a conflitos de interesse entre as fêmeas (Queller et al. 1993 citado em Hastings et al. 1998). Um menor parentesco também poderia levar a conflitos pela postura de ovos de machos porque as operárias estão mais relacionadas com seus filhos do que com os filhos das outras fêmeas da colônia (Queller e Tóth 2002). Devido à possibilidade de existir tais conflitos, o controle reprodutivo dentro da colônia pode decorrer tanto das interações entre rainhas, como também pelas interações entre rainhas e operárias (Hastings et al. 1998, Herman et al. 2000, Strassmann et al. 2002, Noll e Wenzel 2008).

Além disso, são poucos os estudos comportamentais para os Epiponini, especialmente aqueles sobre as interações entre as fêmeas reprodutivas (rainhas) e as não reprodutivas (operárias e intermediárias) (Naumann, 1970; West-Eberhard, 1973, 1978, 1981; Herman et al., 2000; Nascimento et al., 2004; Mateus, 2005). É importante entender as interações entre as fêmeas da colônia, pois para os Polistinae a única forma de separar as fêmeas reprodutoras das não reprodutoras é pelo comportamento, ou pelo grau de desenvolvimento dos ovários (Noll et al., 2004). O estudo do comportamento e as interações sociais junto com os estudos morfométricos podem

ajudar no entendimento da evolução da complexidade encontrada dentro dos Epiponini em comparação com outros grupos sociais dentro de Hymenoptera.

Estudos anteriores (West-Eberhard 1978, Karsai e Wenzel, 2000) demonstram que *Metapolybia* é um gênero adequado para estudos comportamentais pois apresenta complexidade nas relações e comportamentos das fêmeas dentro da colônia e apresenta uma maior facilidade para obtenção de dados se comparado a outros Epiponini, principalmente por decorrência da remoção do envelope e possibilidade e observação do favo (Richards, 1978). O gênero é formado por 11 espécies distribuídas principalmente na América do Sul (Richards 1978). É relacionado tanto por características morfológicas, como arquitetura do ninho, a *Synoeca*, *Asteloeca* e *Clypearia* (Wenzel & Carpenter, 1994). Embora *Metapolybia* seja utilizada como modelo teórico para compreender a biologia comportamental e evolutiva dos Epiponini, apenas *M. aztecoides* (West-Eberhard, 1978) e *M. docilis* (Baio, 2002) foram estudadas até hoje nesses aspectos, sendo que os resultados para *M. docilis* não permitem conclusões relevantes para o tema em questão.

Objetivos

Pelo exposto acima, ao objetivo geral deste trabalho foi descrever o comportamento de rainhas e operárias em *Metapolybia docilis*, e suas interações. Os objetivos específicos foram: descrever a divisão do trabalho das operárias e estudar as variações morfológicas nos adultos.

Materiais e Métodos

O estudo baseou-se na observação e análise de colônias de *Metapolybia docilis*. Esta é uma espécie conhecida desde Panamá até o sul do Brasil (Richards 1978). Foram usadas quatro colônias para este estudo, sendo que duas delas (C1 e C2) foram observadas na Reserva Merck no município de São Luis de Maranhão (S 02° 39' 07,8" e WO 44° 09' 04,0") de 24-26/02/2008, e as outras duas (C3 e C4) foram observadas na Reserva das Paineiras no município de Urbano Santo de Maranhão (S 03° 14' 35,4" WO 43° 25' 28,7") de 03-05/03/2008.

1) Análises comportamentais

Parte do invólucro dos ninhos foi removida para as observações diretas e filmagens utilizando uma filmadora digital Sony Handycam DCR-SR42. Posteriormente, foi tomada uma amostra aleatória dos indivíduos de cada colônia, com o objetivo de realizar observações individuais. Os indivíduos foram classificados com códigos dependendo da localização da cor nas diferentes partes do corpo. Foram classificados como rainhas aqueles indivíduos que foram observados fazendo postura de ovos e comportamentos característicos, como descritos posteriormente. Ovos foram removidos das células para induzir a oviposição das fêmeas. Após as observações, elas foram dissecadas para conferir o grau de desenvolvimento dos ovários e conteúdo da espermateca.

Para todas as colônias foram feitas observações de 40 minutos por hora, uma vez que foi feito um recesso de 10 minutos a cada meia hora de observação. A colônia 1 (C1) foi observada no dia 24 um total de 160 minutos: 80 minutos no período da manhã e da tarde; no dia 25 foi observado um total de 120 minutos durante o período da manhã; e no dia 26 foi observada um total de 120 minutos: 70 minutos no período da manhã e 50 minutos no período da tarde. A colônia 2 (C2) foi observada no dia 24 um total 120 minutos: 40 minutos no período da manhã e 80 minutos no período da tarde; no dia 25 foi observado um total de 110 minutos no período da tarde; e no dia 26 foi observado um total 150 minutos: 70 minutos no período da manhã e 80 minutos no período da tarde.

Para as colônias C3 e C4 as observações eram finalizadas no momento que começava a chover, e também foram feitos recessos de 10 minutos a cada meia hora. A colônia 3 foi observada o dia 3 um total de 130 minutos, 40 minutos no período da manhã e 80 no período da tarde; no dia 4 um total de 200 minutos, 90 minutos no período da manhã, e 110 minutos no período da tarde; no dia 5 um total de 260 minutos, 130 minutos no período da manhã e da tarde. Devido ao ninho da colônia C4 ser pequeno foi possível observar os comportamentos de todos os indivíduos no vídeo, então foram feitas somente filmagens totalizando três horas e 43 minutos.

As filmagens para cada colônia foram realizadas nas horas em que a outra colônia estava sendo observada, para não ter repetição dos dados. Para a C1 foram feitas filmagens totalizando 197 minutos, para C2 194 minutos, para C3 370 minutos, e para C4 223 minutos. Durante as observações diretas as rainhas foram observadas todo o tempo que puderam ser observadas. Durante as análises dos vídeos foram anotados para cada rainha 40 comportamentos por dia. Os comportamentos das

forrageadoras foram analisados durante as observações diretas uma vez que os indivíduos são difíceis de observar nos vídeos; cada fêmea foi observada no máximo por cinco minutos. Os comportamentos das operárias foram observados durante as análises dos vídeos, para cada indivíduo foram anotados 30 comportamentos por dia.

Das observações diretas e de vídeo foram descritos os atos comportamentais observados com maior frequência nas rainhas e operárias, gerando um catálogo de comportamentos cujas descrições se seguem:

Comportamentos associados às rainhas

- Inspeção de célula (IC): rainha insere a cabeça no interior das células.
- Postura de Ovos (OV): ocorre depois da inspeção repetida de uma célula. A rainha introduz todo o abdômen na célula e fica com o tórax e a cabeça fora da célula. As asas permanecem abertas num ângulo aproximado de 20° durante a postura.
- Vigilância (V): a rainha permanece sobre a célula após a postura, introduzindo a cabeça ocasionalmente.
- Curvar abdômen (CA): a rainha parada curva o abdômen em direção à outra rainha ou operária.
- Investir (Arr): caminhar rápido em direção de outro indivíduo.
- Dança de display (DD): uma interação rainha-rainha, ou rainha-operária. É um comportamento recíproco onde um indivíduo faz um determinado comportamento e outro responde frente ao estímulo. Entre os comportamentos

envolvidos no display estão curvar o abdômen, abrir as asas, aproximar as cabeças, virar a posição do corpo, investir, balançar o corpo e caminhar para trás ou na frente.

- Trofalaxia (Tx): a rainha, segundo Mateus (2005), introduz a glossa entre as mandíbulas de outro indivíduo (rainha ou operária) que expõe uma gota de líquido. Também movimentam o primeiro par de pernas durante o intercâmbio de líquido.
- Auto Limpeza (Limp): a rainha esfrega as pernas dianteiras contra a cabeça e antenas, ou as pernas traseiras contra o abdômen e asas e as pernas traseiras embaixo do abdômen.
- Ociosidade (N): as rainhas foram observadas afastadas em alguma parte do ninho, mas sem fazer comportamento nenhum permanecendo quase completamente quietas.

Para contabilizar os diferentes atos associados aos comportamentos e atividades realizados pelas rainhas foram marcadas três rainhas nas colônias C1 e C3 (R11, R12, e R13 para C1; R31, R32 e R34 para C3), sete rainhas para a colônia C2 (R21, R22, R23, R24, R25, R26, e R27), e para a colônia C4 foi marcada a única rainha que foi encontrada no ninho. Também foram anotados os seguintes dados:

- Dança de display (DD): foi anotada a duração total do comportamento, o indivíduo que iniciava a interação, o indivíduo que acabava ou fugia da interação e o grau de curvatura do abdômen.

- Curvar (CA) o abdômen: foi anotada a duração total do comportamento, o grau de curvatura do abdômen, e o estímulo que motivou o comportamento. O grau de curvatura dividiu-se em quatro categorias: Ab1 (curvar só o abdômen num ângulo aproximado de 10-30°), Ab2 (curvar só o abdômen de lado com um ângulo maior de 30°), e Ab3 (curvar cabeça, tórax e abdômen em um determinado ângulo).
- Trofalaxia (Tx): foi anotada a duração total do comportamento, o código do indivíduo com quem interage (se estava marcado) e a frequência.
- Auto Limpeza (Limp): foi anotada a frequência e a duração total do comportamento.
- Inspeção de células rainha (IC): foi anotada a duração total do comportamento, e a quantidade de células inspecionadas.
- Postura de ovos (OV): foi anotada a duração total da inspeção da célula antes da postura, duração total da postura e duração total da vigilância (V) da célula depois da postura.

Comportamentos associados às operárias

- Construção do envelope (CE): operária adiciona polpa macerada na borda do invólucro.
- Aumentar célula (AC): adicionar polpa macerada na borda da célula.
- Revestir célula (RC): quando uma operária adiciona secreções no opérculo ou sobre o casulo da larva na célula.

- Macerar polpa (Mc): quando a operária trabalha a polpa com as mandíbulas e o primeiro par de pernas, adicionando saliva no material que é utilizado na construção de células ou invólucro (Mateus, 2005).
- Repartir polpa (RMt) ou líquido (RLq): operária ou forrageadora divide a massa de polpa ou o líquido, com outro (s) indivíduo (s) da colônia.
- Inspeção da célula (IC): operária insere a cabeça e/ou parte do tórax no interior das células.
- Trofalaxia (Tx): a operária, segundo Mateus (2005), introduz a glossa entre as mandíbulas do outro indivíduo (rainha ou operária) que expõe uma gota de líquido. Igual que as rainhas movimentam o primeiro par de pernas durante o intercambio de líquido.
- Auto Limpeza do corpo (Limp): a operária esfrega as pernas dianteiras contra a cabeça e antenas, ou as pernas traseiras contra o abdômen e asas e as pernas traseiras embaixo do abdômen.
- Antenar (Ant): quando uma operária caminha rapidamente em direção ao frons da outra fêmea e roça as antenas com movimentos rápidos de acima para baixo.
- Limpeza fêmea (Acc): quando uma operária limpa com suas mandíbulas o corpo de uma operária ou rainha.
- Investir (Arr): caminhar rápido em direção de outro indivíduo.
- Morder (M): quando uma fêmea morde outra fêmea em alguma parte do corpo com as mandíbulas.
- Defesa (Df): as operárias ficam na cobertura do ninho vigiando e caminhando pausadamente ou investindo.

- Ociosidade (N): as operárias ficavam sem fazer nenhum comportamento e permaneciam quase completamente quietas.
- Forrageio (Forrg): a operária podia forragear dois tipos de material Forragear Material (FMt): quando uma forrageadora chegava no ninho carregando uma bola de material sólido, ou Forragear líquido (FLq): quando uma forrageadora chegava no ninho carregando líquido. As forrageadoras podiam utilizar o material para trabalhar (FUM) ou para repartir entre outros indivíduos (FRM).
- Dança de display (DD): interação entre rainha-operária. É um comportamento recíproco em que um indivíduo faz um determinado comportamento e outro responde ante o estímulo. Entre os comportamentos envolvidos na interação estão curvar o abdômen, abrir as asas, juntar as cabeças, virar a posição do corpo, investir, balançar e caminhar em direção atrás ou diante.

Para contabilizar os diferentes atos associados aos comportamentos e atividades realizados pelas operárias foram observadas 41 operárias para a colônia C1, para colônia C2 24, para colônia C3 28, e para colônia C4 foram observadas todas as operárias da colônia que totalizaram 11 fêmeas. Também foram anotados os seguintes dados:

- Trabalho de construção: a frequência com que as operárias foram observadas trabalhando no invólucro (CE), aumentando de células (AC), iniciando células ou revestir células (RC), e a duração total do comportamento.

- Trabalho e atividades dentro do ninho: inspeção de células (IC) anotou-se a quantidade de células e duração total da inspeção. Repartição de material, anotou-se o tipo de material, sólido (RMt) ou líquido (RLq) e a frequência. Trofalaxia (Tx) foi anotada a quantidade de trofalaxias, a duração total do comportamento e o código da outra fêmea. Limpeza do corpo foi anotada a frequência e a duração total. Defesa do ninho (Df), anotou-se a quantidade de vezes que a operária foi observada fazendo o comportamento. Investir (Arr) anotou-se o código da fêmea com quem interagiu quando estava marcada. Nada se anotou a frequência e a duração total do comportamento.
- Forrageadoras: foi anotado o tipo de material carregavam sólido (FMt) ou líquido (FLq), e se elas utilizavam o material (FUM) ou repartiam entre outras operárias (FRM).
- Dança de display (DD): foi anotada a duração total do comportamento, a fêmeas que iniciava a interação, o indivíduo que acabava ou fugia da interação e o grau de curvatura do abdômen.

Para analisar e comparar as frequências dos atos comportamentais entre as rainhas, entre as operárias marcadas dentro de uma mesma colônia ou entre as colônias, e analisar os comportamentos das rainhas individualmente foram utilizados análise Qui-quadrado e One Way ANOVA. Para analisar e comparar as médias da duração temporal dos diferentes atos comportamentais entre as rainhas de uma mesma colônia e entre colônias foram utilizados análise T-student e One Way ANOVA. A normalidade dos dados foi testada, mas em caso da rejeição da normalidade foi

calculado o logaritmo natural para ajustar os dados à distribuição normal devido às análises paramétricas apresentarem maior poder estatístico que as não paramétricas. Também os dados de frequência foram corrigidos em relação com a quantidade de fêmeas estudadas e o tempo total de observação. Os dados de duração média foram corrigidos em relação com o tempo de observação total e o tempo de observação para cada comportamento. As análises One Way Anova e T-student foram realizadas de acordo com o programa STATISTICA 7.0, as análises de Qui-quadrado foram feitas no programa Microsoft Excel 2007.

2) Análises morfométricas

Todos os indivíduos das colônias C1, C2 e C3 foram coletados e fixados em álcool 70%. As fêmeas foram classificadas em relação com o desenvolvimento dos ovários e o conteúdo da espermateca. A presença de células na espermateca foi detectada por observação sob o microscópio. Para determinar a idade relativa das fêmeas foi utilizada a análise de coloração progressiva do apódema transversal localizado na base superior dos esternitos. Segundo Richards (1971) e West-Eberhard (1973) a pigmentação progressiva dessas estruturas está relacionada à idade relativa dos indivíduos adultos. Foram feitas cinco categorias: amarelo claro (Am) para as fêmeas mais novas, marrom claro (MC), marrom (M), preto linha delgada (PL), e preto linha grossa (PG) para as fêmeas mais velhas.

Oito medidas corporais externas foram tomadas de uma amostra de 50 operárias (incluindo aquelas fêmeas previamente marcadas), e de todas as rainhas das colônias

(Fig. 1) As medidas forma feitas sob estereomicroscópio binocular mediante o programa Leica[®], incluindo a cabeça, mesosoma e o metasoma:

Cabeça:	Largura máxima da cabeça (LC): passando pelas emarginação dos olhos. Diâmetro mínimo inter-orbital (IDm).
Mesosoma:	Comprimento do mesosoma (CME): da extremidade anterior do mesoscuto até o final posterior do propódeo excluindo o lobo marginal, medida lateralmente. Largura do Mesoscuto (LM): largura máxima medida dorsalmente.
Metassoma:	Altura basal do 1º tergo gastral (ABT ₁): altura máxima medida lateralmente. Comprimento do 1º tergo gastral (CT ₁): comprimento máximo medido lateralmente. Largura basal do tergo II (LBT ₂): largura máxima medida dorsalmente.
Asa:	Comprimento alar (CA): da extremidade anterior da 1ª célula submarginal (SM ₁) até a margem final da célula marginal (MC).

Os dados obtidos após mensuração foram analisados estatisticamente segundo a Análise Discriminante e One Way ANOVA com teste a posteriori de Bonferroni, realizadas de acordo com o programa STATISTICA 7.0. Também foi feita uma Análise de Covariância para determinar diferenças na forma das fêmeas entre as castas. Para essa análise, CA foi usada como covariável e todas as demais medidas foram divididas por ela e essas razões foram ressubmetidos a uma Análise Discriminante conforme procedimentos de Baio et al. (2003).

Figura 1. Medidas morfométricas tomadas das fêmeas das colônias C1, C2 e C3 de *Metapolybia docilis* tomado de Noll et al. (2004).

Resultados

A- Descrição dos ninhos e Ciclo Colonial

Os ninhos de *M. docilis* estudados correspondem às descrições anteriores feitas para o gênero (Richards, 1978 e Wenzel, 1998). Eram do tipo astelocítaros formados por um favo único com as células aderidas diretamente ao substrato, o invólucro era plano em forma de cúpula, e de coloração cinza e marrom com linhas irregulares obscuras (negras, brancas e marrons), com aparência corrugada muito parecida à superfície onde se encontrava localizada, de maneira que eram difíceis de distinguir (Fig. 2). O invólucro do ninho da colônia C3 tinha pequenos pedaços de líquens colocados pelas operárias que o mimetizavam muito bem com a superfície da árvore (Fig. 3). Os ninhos tinham uma única entrada, localizada no extremo superior que estava mimetizada com o resto do invólucro, de maneira que era difícil de distinguir. O ninho da colônia C4 só possuía umas poucas células sem conteúdo e não tinha invólucro, provavelmente o ninho pertencia a uma colônia órfã (Fig. 4).

O ninho da C1 teve um total de 1976 células, 248 células tinham ovos, 228 larvas e 170 pupas. A colônia estava formada por 294 indivíduos: 272 operárias e 22 rainhas; a proporção das rainhas na colônia foi de 0.07. O ninho da C2 teve um total de 1400 células, o conteúdo destas não foi quantificado porque o ninho adquiriu um fungo que o destruiu, mas tinha ovos, larvas e pupas nas células. A colônia C2 tinha uma população de 570 indivíduos: 497 operárias, 57 machos e 16 rainhas; a proporção das rainhas na

colônia foi de 0.03. O ninho da C3 no momento da coleta estava molhado e a maioria das células foi destruída, mas era formada somente por ovos. A colônia C3 tinha uma população de 57 indivíduos: 47 operárias e 10 rainhas, a proporção de rainhas na colônia foi de 0.18. O ninho da C4 era composto por 54 células, mas não foi coletado uma vez que a maioria das células não estava finalizada e não tinham conteúdo; era composto por 11 operárias e uma rainha com proporção de 0.08.

Possivelmente a colônia C1 estava numa Fase Madura uma vez que apresentava ovos, larvas e pupas, uma proporção baixa de rainhas, e estava formada por uma população só de fêmeas (Noll & Zucchi, 2000; Noll & Zucchi, 2002). Todas as rainhas encontradas na C1 eram velhas (PL), portanto a colônia não estava numa fase de produção de rainhas, mas sim de produção de operárias uma vez que a maioria era jovem (T e MC) (Fig. 5). A colônia C2 também tinha ovos, larvas e pupas, mas a proporção de rainhas foi menor do que na C1, por outro lado a população foi maior e apresentava machos, portanto a colônia podia estar numa Fase de Pré- Enxameagem (Noll & Zucchi, 2000; Noll & Zucchi, 2002). Além da proporção de rainhas ter sido menor em C2 do que em C1, possivelmente C2 não se encontrava numa fase de produção de rainhas uma vez que todas as rainhas encontradas eram velhas (PL). Portanto, do mesmo modo que C1, C2 estava numa fase de produção de operárias uma vez que a maioria das fêmeas analisadas era jovem. A C3 tinha uma proporção de rainhas maior do que nas outras colônias, mas o conteúdo das células somente incluía ovos, provavelmente a colônia se encontrava numa Fase de Estabelecimento igual que C4 onde as células não tinham conteúdo e a população era muito menor que em C3 (Noll & Zucchi, 2000; Noll & Zucchi, 2002). A colônia C3 era formada por operárias velhas (PG e M) e rainhas velhas (PL) (Fig. 5) possivelmente porque a colônia foi

originada por uma migração forçada [fêmeas velhas dentro de um ninho jovem (Noll & Zucchi, 2000; Noll & Zucchi, 2002)].

Figura 2. Ninho da colônia C1 de *M. docilis* na Reserva da Merck no Maranhão.

Figura 3. Ninho da colônia C3 de *M. docilis* na Reserva de Urbano Santos no Maranhão.

Figura 4. Ninho da colônia C4 de *M. docilis* na Reserva de Urbano Santos no Maranhão.

Figura 5. Percentagem de fêmeas em relação à idade relativa para as colônias C1, C2

e C3 de *M. docilis* (T= amarelo claro, MC= marrom claro, M= marrom, PL= preto linha delgada, PG= preto linha grossa).

B- Análises comportamentais

Rainhas

As rainhas em geral se caracterizam por caminhar com o abdômen erguido num ângulo de 180° em relação ao favo, em algumas ocasiões com as asas abertas em ângulos desde os 50° até aproximadamente 80°. As rainhas também caminham de uma forma mais lenta que as operárias.

Os comportamentos realizados com maior frequência pelas rainhas das quatro colônias foram: CA, DD (para as colônias C1 e C2), IC, Tx e Limp (C1 $\chi^2 = 378.549$ gl= 6 $p < 0.0001$; C2 $\chi^2 = 273.621$ gl= 3 $p < 0.0001$; C3 $\chi^2 = 23.864$ gl= 4 $p < 0.0001$; C4 $\chi^2 = 11.017$ gl= 3 $p < 0.05$) (Fig. 6). Os comportamentos foram realizados individualmente pelas rainhas dentro das colônias C1, C2 e C3 com uma frequência similar. A duração média com que todas as rainhas de cada colônia fizeram os diferentes comportamentos foi similar para C2, C3 e C4, entretanto para C1 a duração média foi diferente (ver resultados do comportamento DD).

O comportamento trofalaxia- trofalaxia foi feito pelas rainhas de todas as colônias somente com operárias, nunca foi observado entre rainhas. Os comportamentos OV e V foram observados somente em quatro ocasiões: uma vez em C1 (após das marcações), duas vezes em C2 e uma vez em C3. O comportamento Arr foi observado com maior frequência como parte do comportamento DD, do que isolado. Por outro

lado, as rainhas da colônia C3 foram observadas na maior parte do tempo Ociosas (N) (média= 5.86 minutos SD= 5.02) em relação aos outros comportamentos ($\chi^2 = 1713.930$ gl= 5 $p < 0.0001$). As rainhas não foram observadas realizando trabalhos afeitos às operárias dentro do ninho, com exceção das rainhas R31 e R32 da colônia C3 que foram observadas realizando os trabalhos de maceração de material (Ms), construção do invólucro (CE) e defesa (Df).

O comportamento CA provavelmente é um comportamento *display* de dominância feito pelas rainhas, pois foi observado em resposta aos comportamentos realizados por outros indivíduos da colônia. Principalmente CA ocorreu quando as operárias antenavam alguma parte do corpo da rainha (OAC), quando inspecionava uma célula (IC) perto da rainha, quando duas fêmeas dançando próximas (DDC), e quando uma operária (OPC) ou uma rainha (RaC) passaram caminhando perto da rainha. Dos comportamentos observados com maior frequência, CA foi o mais realizado pelas rainhas das colônias C1, C2 e C4 (Fig. 6). As rainhas da colônia C3 na maior parte do tempo foram observadas ociosas ou não se encontravam na parte do invólucro aberta durante as filmagens e observações. Consequentemente, a amostra do comportamento CA foi muito pequena para ser analisada. Entretanto dentro da amostra dos comportamentos observados para C3, CA foi o segundo feito com maior frequência depois de IC (Fig. 6). Quando a frequência do comportamento CA foi analisada por hora de observação, as rainhas da colônia C1 fizeram mais frequentemente esse comportamento (CA) do que as rainhas das outras colônias ($\chi^2 = 13.983$ gl= 3 $p < 0.05$) (Fig. 7). Por outro lado, a rainha de C4 fez o comportamento CA com uma média maior de tempo do que as rainhas das outras colônias ($F = 9.971$ gl= 3 $p < 0.0001$) (Fig. 8).

Figura 6. Frequência dos comportamentos (CA= curvar abdômen, DD= dança de display, IC= inspeção da célula, Tx= trofalaxia, Limp= auto limpeza) nas rainhas das colônias C1, C2, C3 e C4 de *M. docilis*.

Figura 7. Frequência do comportamento CA (curvar abdômen) por hora de observação nas colônias C1, C2, C3 e C4 de *M. docilis*.

Figura 8. Duração média (segundos) do comportamento CA (curvar abdômen) nas colônias C1, C2, C3 e C4 de *M. docilis*.

Em C2 as rainhas R23 e R24 curvaram o abdômen durante uma média de tempo maior do que as outras rainhas da colônia ($F = 4.452$ gl= 6 $p < 0.001$). Para as outras colônias não foi encontrada diferença individual de CA entre as rainhas.

O comportamento CA foi realizado pelas rainhas das colônias C1 e C2 como resposta principalmente aos comportamentos estimulantes OAC, IC e OPC (C1= IC e OAC, $\chi^2 = 39.415$ gl= 3 $p < 0.0001$; C2= OPC e OAC $\chi^2 = 130.041$ gl= 3 $p < 0.0001$) (Fig. 9). Para a rainha da colônia C4 não foi encontrada diferença significativa entre a frequência de realizar CA frente aos diferentes comportamentos estimulantes. As rainhas das colônias C1, C2 e C4 curvaram o abdômen em maior grau Ab2 (C1 $\chi^2 = 6.085$ gl= 2 $p < 0.05$; C2 $\chi^2 = 48.809$ gl= 2 $p < 0.0001$; C4 $\chi^2 = 14.857$ gl= 2 $p < 0.001$). O grau de curvatura do abdômen (Ab1, Ab2 e Ab3) também podia variar frente aos diferentes comportamentos estimulantes. Por exemplo, as rainhas da colônia C2 frente ao comportamento estimulante OPC curvaram o abdômen em maior grau Ab2 ($\chi^2 = 13.170$ gl= 2 $p < 0.05$); frente aos comportamentos estimulantes IC e OAC curvaram mais frequentemente em grau Ab1 (IC $\chi^2 = 17.844$ gl= 2 $p < 0.0001$, OPC $\chi^2 = 21.164$ gl= 2 $p < 0.0001$). A rainha de C4 curvou o abdômen mais frequentemente em grau Ab2 frente aos comportamentos estimulantes IC e OAC (IC $\chi^2 = 9.5$ gl= 2 $p < 0.05$; OAC $\chi^2 = 8.240$ gl= 2 $p < 0.05$). Para o comportamento OPC não foi encontrada diferença do grau de curvatura na rainha da C4. Para as rainhas da colônia C1 não foi encontrada diferença no grau de curvar o abdômen frente aos diferentes comportamentos estimulantes.

O comportamento DD provavelmente está ligado a interações competitivas ou de dominância entre as fêmeas das colônias. Foi analisado somente nas colônias C1 e C2 uma vez que as rainhas da colônia C3 a maior parte do tempo não se encontravam na

parte do invólucro aberta, e porque a rainha da C4 não foi observada fazendo o comportamento de DD. As rainhas da C3 só realizaram três vezes o comportamento DD [R31 (N= 1), R32 (N= 1) e R34 (N=1)], portanto a amostra foi muito pequena para ser analisada.

O comportamento DD foi observado com maior frequência em C1 (N=123) do que em C2 (N=61) ($\chi^2 = 8.854$ gl= 1 $p < 0.05$) (Fig. 10); também teve uma duração média maior nas rainhas da C1 do que nas rainhas da C2 ($t = -3.245$ gl= 172 $p < 0.05$) (Fig. 11). Dentro da colônia C1 o comportamento DD teve uma duração média maior do que os outros comportamentos observados ($\chi^2 = 38.251$ gl= 6 $p < 0.0001$) (Fig. 12), por outro lado em C2 não foi encontrada diferença entre a duração média dos comportamentos. As rainhas foram observadas fazendo DD com maior frequência com outras rainhas do que com operárias (C1 $\chi^2 = 86.048$ gl= 2 $p < 0.0001$; C2 $\chi^2 = 17.738$ gl= 2 $p < 0.001$). As rainhas de C1 fizeram DD com uma operária marcada 11 vezes (8.9%), fêmeas sem identificar 89 vezes (72.3%), e com outras rainhas 23 vezes (18.7%). As rainhas da C2 fizeram DD com uma operária cinco vezes (8.2%), fêmeas não marcadas 30 vezes (49.2%) e com as rainhas 26 vezes (42.62%). Por outro lado a DD rainha-rainha e rainha-operária tiveram uma duração média similar para as duas colônias. Também não foi encontrada diferença entre qual fêmea (operárias, fêmeas sem identificar ou rainhas) começava ou encerrava o comportamento DD nas duas colônias. Quando as rainhas da C1 executaram o comportamento CA dentro do comportamento DD foram observadas curvando o abdômen com maior frequência em grau Ab2 ($\chi^2 = 40.353$ gl= 2 $p < 0.0001$). As rainhas da C2 executaram CA mais frequentemente no grau Ab1 durante a DD ($\chi^2 = 12.583$ gl= 2 $p < 0.05$).

Figura 9. Frequência do comportamento CA (curvar abdômen) nas rainhas das colônias C1 e C2 de *M. docilis* frente aos comportamentos estimulantes (IC= inspeção da célula próxima da rainha, DDC= dança de display próxima, OAC= antenando próxima, OPC= passando próxima, RaC= rainha próxima).

Figura 10. Frequência do comportamento DD (dança de display) por hora de observação para as colônias C1 e C2 de *M. docilis*.

Figura 11. Duração média (segundos) do comportamento DD (display de dança) para as colônias C1 e C2 de *M. docilis*.

Figura 12. Tempo médio investido pelas três rainhas da colônia C1 de *M. docilis* nos principais comportamentos observados (DD= dança de display, Tx= trofalaxia, IC= inspeção da célula, Limp= auto limpeza, CA= curvar abdômen).

Operárias

As operárias caminhavam rapidamente dentro do ninho com o abdômen contraído num ângulo aproximado de 20° até 30° em relação ao favo, e com as asas fechadas. As operárias que foram observadas defendendo a colônia (Df) caminharam sobre o envelope pausadamente de modo similar ao das rainhas, com o abdômen erguido num ângulo de 180° (em relação ao favo) e com as asas abertas geralmente entre 60° e 80° ; quando percebiam outro indivíduo perto delas investiam (Arr). Em cinco ocasiões (uma C1, uma C2, duas em C3 e uma em C4) quando foi removido o envelope ou retirados ovos das células, foi observado um comportamento de defesa que incluía muitas fêmeas. A maioria das vespas (aproximadamente um 85%) saía voando do ninho na direção do observador, depois ficavam voando perto do ninho por aproximadamente dois minutos, e finalmente entravam aos poucos no ninho.

No caso da colônia C3, diante da situação descrita anteriormente, as vespas depois de voar na direção do observador voltavam para superfície do ninho e eram observadas fazendo um comportamento de *display* geral. As vespas ficavam numa posição corporal com o tórax um pouco levantado (uns 20°) e as asas abertas (ângulo de 60° - 70°), vibrando as pernas dianteiras e contraindo o abdômen rapidamente por 40 segundos. Depois do *display*, ficavam fora do ninho por 20 segundos a mais com as asas abertas, e finalmente foram entrando aos poucos. Outro comportamento de defesa observado para a colônia C3 ocorreu quando chegaram formigas perto do ninho. Foi observado um comportamento similar ao descrito por Jeanne (1991) onde as vespas levantavam o tórax (20° a 30°) e batiam as asas rapidamente. Foi observado também

que as operárias podiam prender as formigas pequenas com as mandíbulas para tirá-las fora da árvore.

As forrageadoras foram observadas chegando no ninho carregando algum tipo de material. Quando pousavam no ninho caminhavam rapidamente muito excitadas geralmente batendo as asas procurando outra operária para entregar o material. O material foi repartido pelas forrageadoras entre duas ou três operárias no máximo estas operárias repartiram o material entre outras operárias que atraídas se aproximavam. Quando o material era líquido as operárias podiam dividi-lo entre outras fêmeas, ou possivelmente para alimentar os imaturos, uma vez que foram observadas revisando células depois de obter o material. Quando o material era sólido as operárias foram observadas utilizando o material para alimentar imaturos (IC) ou para construir. O material sólido foi dividido entre duas ou três operárias que depois dividiam o material com uma ou duas operárias. Após receberem o material as operárias primeiro o maceravam (ver descrição dos comportamentos) e depois o utilizavam para construir.

O comportamento que foi realizado com maior frequência pelas operárias das colônias C1, C2 e C3 foi IC, em C4 o comportamento mais frequente foi Tx ($C1 \chi^2 = 419.875 \text{ gl} = 5 \text{ p} < 0.0001$; $C2 \chi^2 = 282.365 \text{ gl} = 6 \text{ p} < 0.0001$; $C3 \chi^2 = 544.169 \text{ gl} = 5 \text{ p} < 0.0001$; $C4 \chi^2 = 165.655 \text{ gl} = 4 \text{ p} < 0.0001$) (Tabela 1). Um dos comportamentos realizados com menor frequência pelas operárias das colônias C1, C2 e C3 foi AC, embora em C4 ele tenha sido um dos comportamentos mais realizados pelas operárias (Tabela 1). Acc foi um dos comportamentos menos realizados pelas operárias das colônias C3 e C4 (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência dos comportamentos inspeção de célula (IC), trofalaxia (Tx), auto limpeza (Limp), forrageio (Forrg), construção do envelope (CE), investir (Arr), limpeza fêmeas (Acc), revestir célula (RC), defesa (Df), aumentar célula (AC) e ociosidade (N) em todas as operárias das colônias C1, C2, C3 e C4.

Colônia	Atividade										
	IC	Tx	Limp	Forrg	CE	Arr	Acc	RC	Df	AC	N
C1	296	161	59	47	30	15	8	0	5	2	0
C2	179	158	44	51	28	9	5	31	10	1	6
C3	424	374	329	85	175	2	2	0	12	0	6
C4	52	186	155	9	0	0	9	9	0	30	105

Dentro das quatro colônias nunca foi possível observar uma operária iniciando uma célula, mas as operárias foram observadas fazendo outras atividades de manutenção das células. Por exemplo, as operárias das colônias C2 e C4 foram observadas RC e as operárias da C4 foram observadas fazendo AC. O comportamento de construção do envelope (CE) foi feito com frequência similar pelas operárias das quatro colônias. O comportamento de canibalismo foi observado quatro vezes, uma vez na C2 quando uma operária tirou uma larva da célula e comeu com outras duas operárias; e duas vezes na C3 quando duas operárias tiraram uma larva da célula e comeram junto com outra operária, e quando uma operária tirou um ovo da célula que depois comeu.

As operárias da colônia C3 inspecionaram em média mais células do que as operárias das outras colônias ($F = 16.398$ $gl = 3$ $p < 0.0001$), segundo a análise a posteriori de Bonferroni as operárias da C1 revisaram mais células que as operárias das C2 e C4, mas não foi encontrada diferença entre a quantidade de células revisadas

pelas operárias das colônias C2 e C4 (Fig. 13). Também as operárias da C3 revisaram as células por uma média de tempo maior ($F= 148.367$ gl= 3 $p< 0.0001$) em relação com as outras colônias (Fig. 14). Entretanto segundo a análise de Bonferroni as colônias C1, C2 e C4 não diferem entre si. As operárias das colônias C3 e C4 foram observadas fazendo o comportamento de Limp com maior frequência que as operárias das C1 e C2 ($\chi^2= 127.329$ gl= 3 $p< 0.0001$). O comportamento trofalaxia- trofalaxia foi feito mais frequentemente com outras operárias e fêmeas sem marcar do que com rainhas ($\chi^2= 572.890$ gl= 1 $p< 0.0001$) (Fig. 15).

O comportamento DD foi realizado somente por uma operária em C1 (O21) e uma operária em C2 (O53). A operária O21 foi observada dez vezes fazendo DD, em duas ocasiões ela começou executar DD e quatro vezes foi observada acabando. A operária O53 foi observada realizando o comportamento DD cinco vezes, em nenhuma ocasião foi observada iniciando, mas quatro vezes foi observada concluindo esse comportamento. Entretanto, outros comportamentos de interação foram feitos pelas operárias das quatro colônias, as operárias da C1 e C2 foram observadas Arr 25 vezes contra fêmeas sem marcar e outras operárias. As operárias das colônias C3 e C4 foram observadas fazendo o comportamento Ant cinco vezes contra rainhas (N=2) e fêmeas sem marcar (N=3). Também uma operária da C2 foi observada mordendo uma fêmea sem marcar no abdômen durante cinco segundos.

A proporção de forrageadoras entre as diferentes colônias foi similar, na colônia C1 73% das operárias foram observadas forrageando, em C2 50%, em C3 64%, e em C4 18%. A quantidade de forrageadoras que foram observadas carregando material líquido foi similar à quantidade de forrageadoras que foram observadas carregando material sólido para todas as colônias (Fig. 16). Quando chegavam ao ninho as

forrageadoras foram observadas repartindo mais o material para outras fêmeas, uma vez que somente foram observadas em três ocasiões (duas na C1, e uma na C3) utilizando a carga líquida (o material sólido sempre foi repartido). Possivelmente as forrageadoras utilizaram o líquido para alimentar os imaturos, uma vez que depois de chegarem ao ninho foram observadas inspecionando células. Somente sete das 62 forrageadoras observadas para todos os ninhos, carregavam tanto material sólido quanto líquido (quatro na C1, uma na C2, e duas na C3). A maioria das forrageadoras de todas as colônias realizou outras atividades dentro do ninho ($\chi^2 = 5.226$ gl= 1 $p < 0.05$). O comportamento mais frequente das forrageadoras de todas as colônias foi IC ($\chi^2 = 65.923$ gl= 5 $p < 0.0001$), mas também foram observadas fazendo trabalhos de construção (CE e AC), entre outras atividades (Fig. 17). As forrageadoras das diferentes colônias realizavam as atividades com frequência similar.

Figura 13. Média de células revisadas pelas operárias das colônias C1, C2, C3 e C4 para *M. docilis*.

Figura 14. Duração média (segundos) da inspeção das células (IC) para as operárias das colônias C1, C2, C3 e C4 de *M. docilis*.

Figura 15. Frequência do comportamento trofalaxia- trofalaxia das operárias com as fêmeas dentro dos ninhos nas colônias C1, C2, C3 e C4 para *M. docilis*.

Figura 16. Quantidade de forrageadoras que carregaram material sólido ou líquido nas colônias C1, C2, C3 e C4 de *M. docilis*.

Figura 17. Comportamentos realizados pelas forrageadoras (IC= inspeção da célula, CE/AC= construir envelope ou aumentar célula, Arr= investir, Acc= limpeza fêmea, RMt/Rliq= repartir polpa ou líquido, Df= defesa) dentro do ninho para as colônias C1, C2, C3 e C4 de *M. docilis*.

C- Diferenças morfológicas entre Rainhas e Operárias

Foram observados três tipos de ovários: Tipo 1, ovários filamentosos sem oócitos visíveis, Tipo 2, ovários filamentosos com oócitos imaturos muito pequenos, e Tipo 3, ovários bem desenvolvidos no mínimo com um ovo desenvolvido e com a espermateca inseminada. Foram classificadas como rainhas as fêmeas com ovários Tipo 3, como operárias 1 as fêmeas com ovários Tipo 1 e como operárias 2 as fêmeas com ovários Tipo 2.

As diferenças entre as castas (rainhas – fêmeas com ovários do tipo 3 versus operárias – fêmeas com ovários tipo 1 e 2), da colônia C1 apresentam valores de Lambda de Wilks entre 0.32 e 0.39, de modo que existe alguma diferenciação de tamanho entre as castas (Fig. 18). Entretanto não foram encontradas diferenças de forma entre as castas segundo a Análise de Covariância. Segundo a Análise Discriminante as fêmeas podem ser separadas pelo tamanho nas seguintes medidas: IDm, CME e ABT1 (Tabela 2). Diferenças significativas ($F = 5.925$ $p < 0.001$) entre rainhas e operárias foram encontradas em sete medidas (incluindo as variáveis da Análise Discriminante) através da ANOVA: LM, CT1, CA e LBT2 (Tabela 3). As rainhas são menores que as operárias em todas as medidas significantes, e as operárias 2 são maiores que as operárias 1 na medida LBT2 e ABT1 (Fig. 19). Segundo a Análise Discriminante, 82% das rainhas, 87% das operárias 1, e 67% das operárias 2 foram classificadas corretamente.

Tabela 2. Variáveis morfométricas (mm) discriminatórias entre as fêmeas das colônias C1 e C2 de *M. docilis* segundo a Análise Discriminante.

Variável	Colônia	Wilks Lambda	F- remove (2,71)	Probability
IDm	C1	0.39	6.67	p< 0.05
CME		0.38	5.59	p< 0.05
ABT1		0.36	3.82	p< 0.05
LC	C2	0.69	8.36	p< 0.001
CA		0.62	4.51	p< 0.05

Os valores de Lambda de Wilks para a colônia C2 variam entre 0.54 e 0.69, indicando pouca diferenciação de tamanho entre as castas (Fig. 18). Entretanto segundo a Análise de Covariância as castas podem ser separadas pela forma da cabeça (LC). As operárias 1 tem a cabeça maior do que as rainhas (Wilks Lambda= 0.668 F- remove= 4.075 p< 0.050). Segundo a Análise Discriminante as fêmeas podem ser separadas pelo tamanho mediante as variáveis LC e CA (Tabela 2); por outro lado segundo ANOVA existem diferenças significativas (F= 2.617 p< 0,01) entre rainhas e operárias nas medidas LC, LM e LBT2, mas não em CA (Tabela 3) (Fig. 19). As rainhas são significativamente menores que as operárias 1 em LM e LC, e significativamente menores que as operárias 2 em LBT2; as operárias 1 não diferem significativamente das operárias 2. Segundo a Análise Discriminante 68% das rainhas, 93% das operárias 1 e 0% das operárias 2 foram classificadas corretamente.

Tabela 3. Média e desvio padrão (mm) para as medidas variáveis entre rainhas e operárias das colônias C1 e C2.

Colônia		Média ± Desvio Padrão			Teste Bonferroni		
Variável		Rainhas	Operárias 1	Operárias 2	R/O1	R/O2	O1/O2
LM	C1	1.64 ± 0.03	1.69 ± 0.11	1.80 ± 0.02	*	*	#
CT1		1.89 ± 0.05	1.98 ± 0.08	2.08 ± 0.04	*	*	*
LBT2		0.61 ± 0.01	0.63 ± 0.03	0.68 ± 0.03	*	*	#
CME		2.98 ± 0.09	3.15 ± 0.13	3.26 ± 0.09	**	**	#
IDm		1.04 ± 0.02	1.09 ± 0.03	1.12 ± 0.02	**	**	#
ABT1		0.28 ± 0.01	0.28 ± 0.02	0.30 ± 0.01	*	*	#
CA		2.67 ± 0.05	2.78 ± 0.08	2.87 ± 0.04	**	**	#
LM	C2	1.68 ± 0.05	1.72 ± 0.06	1.71 ± 0.03	*	#	#
LC		2.47 ± 0.05	2.52 ± 0.05	2.53 ± 0.05	*	#	#
LBT2		0.65 ± 0.03	0.68 ± 0.06	0.73 ± 0.05	#	*	#

*p< 0.05 **p< 0.001, # p> 0.05

Para a colônia C3 os valores de Lambda de Wilks foram entre 0.59 e 0.67 indicando também pouca diferenciação morfológica entre as castas de fêmeas, semelhante com a C2 (Fig. 18). As castas podem ser separadas pela forma (Wilks Lambda= 0.715 F- remove= 3.324 p< 0.050) e tamanho (Wilks Lambda= 0.677 F- remove= 3.227 p< 0.050) da cabeça pela variável LC. Por outro lado, mediante a ANOVA não foram encontradas diferenças significativas do tamanho entre as castas, mas sim da forma nas operárias 1 que diferem na forma da cabeça das operárias 2, mas não das rainhas. Segundo a Análise Discriminante 50% das rainhas, 90% das operárias 1 e 43% das operárias 2 foram classificadas corretamente.

Figura 18. Separação entre fêmeas das colônias C1, C2 e C3 (R= rainhas, O1= operárias 1, O2= operárias 2) de *M. docilis* de acordo com a Análise Discriminante.

Figura 19. Diferenciação das rainhas (R), operárias 1 e 2 (O1 e O2) de *M. docilis* para a colônia C1 segundo o IDm e o CME, e para C2 segundo CA e LC.

Discussão

Comportamento e Ciclo Colonial

As rainhas nos Epiponini geralmente realizam tarefas associadas ao rol reprodutivo (Hanson e Gould, 2006) ou apresentam comportamentos de *display* (West-Eberhard, 1978). Os comportamentos observados nas rainhas das quatro colônias seguem o padrão acima descrito, à exceção de duas rainhas da colônia 3 que foram observadas uma vez realizando trabalhos próprios de operárias. Os *displays* observados em *M. docilis* estão associados aos comportamentos CA e DD. Segundo West-Eberhard (1978), os *displays* são testes da dominância das rainhas por parte das operárias em *M. aztecoides*. Os demais comportamentos observados, como trofalaxia (Tx), limpeza corporal (Limp) e inspeção de células (IC), estão relacionados às necessidades básicas das rainhas como alimentação, comunicação e higiene (Baio, 2002). O comportamento IC provavelmente é utilizado para obter alimento, pois quando a rainha insere a cabeça dentro da célula pode ocorrer transferência de fluidos com as larvas (Mateus, 2005). Segundo Hunt et al. (1987) as larvas digerem o alimento e produzem uma saliva que constitui a principal fonte de alimento para os adultos. Possivelmente o intercambio de líquidos com as larvas é a forma das rainhas obterem alimento uma vez que a Tx não foi um comportamento frequentemente observado nas colônias C1 e C2 (Fig. 6). Nas rainhas das colônias C3 e C4 o intercambio de líquido com as operárias foi mais frequente (dentro dos comportamentos observados) pela

ausência de imaturos na colônia para tratar o alimento; sendo a Tx com as operárias a única forma de obter alimento. O comportamento CA provavelmente é um *display* de dominância (não de teste) das rainhas sobre as operárias, uma vez que foi executado em todas as colônias somente pelas rainhas, e foi observado principalmente como resposta aos comportamentos estimulantes feitos pelas operárias. Poucas vezes foi observado como resposta aos comportamentos das rainhas, isolado do comportamento DD (Fig. 9). Na rainha da C4 o comportamento CA foi feito por uma média maior de tempo em relação às rainhas das outras colônias por ser o único display de dominância utilizado dentro desta colônia.

O comportamento DD foi observado somente em duas operárias marcadas, mas também foi observado com muita frequência em fêmeas não marcadas que tinham uma alta probabilidade de serem operárias devido à baixa proporção das rainhas nas colônias C1 e C2. Mas, dentro destas colônias a capacidade reprodutiva das rainhas não foi testada somente pelas operárias, mas também pelas rainhas uma vez que o comportamento DD foi observado frequentemente entre elas. Segundo West- Eberhard (1978), durante os testes feitos pelas fêmeas (DD), as rainhas podem responder adotando uma postura subordinada como regurgitar fluidos, ou podem responder de maneira dominante; quando as rainhas respondem de maneira subordinada podem ser forçadas a abandonar o ninho, ou tornar-se operárias. Entretanto as relações entre rainhas e operárias das colônias C1 e C2 não foram agressivas, as operárias foram observadas fazendo poucos comportamentos agressivos dentro de todas as colônias, por exemplo, o comportamento Arr foi pouco frequente isolado do comportamento DD, e o comportamento morder foi feito somente uma vez por uma operária. Também quando as rainhas acabavam a DD não foram observados comportamentos agressivos

às rainhas por parte das operárias e fêmeas sem identificar, e também nunca foi vista uma rainha sendo forçada a abandonar o ninho em nenhuma das quatro colônias. Possivelmente, dentro das colônias de *M. docilis*, as rainhas em lugar de serem expulsas da colônia possam tornar-se operárias uma vez que foram observadas duas rainhas trabalhando. As operárias controlam a maioria das funções dentro das colônias e podem ter evoluído para maximizar seu *fitness*, ou seja, maximizar os interesses coletivos da casta, uma vez que são maioria dentro das colônias e podem estar em vantagem para regular a produção e seleção das rainhas (Hastings et al. 1998, Herman et al. 2000). Segundo Noll e Wenzel (2008), as rainhas nos Epiponini não monopolizam o controle reprodutivo por meio de comportamentos agressivos, mas por meio de comportamentos de *display* ritualizados, uma vez que as rainhas contribuem pouco na estrutura social da colônia.

Segundo Bourke (1999), sociedades com tamanho pequeno deveriam apresentar maior quantidade de conflitos entre as fêmeas da colônia devido às operárias terem uma chance maior de tornarem-se rainhas. Entretanto, essa ideia aparentemente não está relacionada com a variação no tamanho populacional dentro das colônias de *M. docilis*, porque nas colônias de menor tamanho os comportamentos de interação entre operárias e rainhas não incluíam os *displays* CA e DD tão frequentemente como nas colônias C1 e C2 de maior tamanho. Possivelmente os comportamentos de teste nestas colônias estejam mais relacionados com o ciclo colonial do que com o tamanho populacional.

Segundo West-Eberhard (1978) durante o início do ciclo colonial de *M. aztecoides* pode existir maior tolerância entre as fêmeas da colônia gerando rainhas temporárias para aumentar a produção de novas operárias. Devido às colônias C3 e C4

encontrarem-se na fase de estabelecimento o comportamento DD pode ter sido menos frequente do que em C1 e C2, pois as colônias estavam num processo de crescimento. O comportamento observado nas rainhas da colônia 3 (R31 e R32) é um resultado que pode apoiar a hipótese das rainhas temporárias, uma vez que durante os dois primeiros dias as rainhas foram observadas realizando comportamentos característicos das rainhas (CA, RC, DD, Nada), e o ultimo dia foram observadas realizando trabalhos característicos das operárias (Ms, CE e Df).

As colônias C1 e C2, por outro lado, encontravam-se em fases maduras do ciclo colonial (Matura e Pré- Enxameagem), onde a quantidade de operárias na população possivelmente era suficiente para manter as necessidades básicas da colônia. Durante esta fase, segundo West-Eberhard (1978), a tolerância entre as fêmeas diminui e começa a eliminação das rainhas por meio de testes de dominância, por isto nas colônias C1 e C2 o comportamento DD e os comportamentos agressivos por parte das operárias (além que não foram comuns dentro das colônias) foram observados com maior frequência do que em C3 e C4 (Fig. 6). O controle reprodutivo observado é exercido pelas rainhas e operárias dentro das colônias para suprimir a produção de novas rainhas e aumentar o parentesco entre as rainhas velhas e entre a progênie das rainhas velhas (operárias) (Queller et al. 1993 citado em Hastings et al. 1998); a produção de novas rainhas só será favorecida quando o número de rainhas velhas for muito baixo (Strassmann et al. 2002). O comportamento de teste DD foi observado com maior frequência na colônia C1 do que em C2 (Fig. 10 e 11), uma vez que C1 tinha uma proporção maior de rainhas e podia estar numa fase de eliminação inicial, se comparado a C2 que tinha uma proporção de rainhas menor. Igualmente, a curvatura do abdômen dentro do comportamento DD foi feito num grau maior pelas rainhas da C1

(Ab2) possivelmente por ser mais intenso o processo de eliminação (DD observado com maior frequência dentro desta colônia), e os testes serem mais intensos também, o que poderia ter provocado um maior grau do *display* por parte das fêmeas.

Em relação às operárias, o comportamento realizado com maior frequência em todas as colônias foi IC, indicando que o atendimento dos imaturos e o policiamento de ovos foram as principais atividades feitas dentro das colônias. As operárias além de atender os imaturos verificando as células na procura de fungos e larvas parasitadas, possivelmente também trocavam líquidos com as larvas (de igual maneira que as rainhas), o que, como explicado anteriormente, pode ajudar no tratamento dos alimentos (Hunt et al. 1987). O canibalismo observado nas colônias poderia estar relacionado à eliminação de imaturos infectados por parasitóides (West- Eberhard, com. pes.), ou ao policiamento de ovos de machos. Possivelmente, o fato de as operárias da colônia C3 revisarem em média mais células durante uma média maior de tempo do que as operárias das outras colônias (Fig. 13 e 14) pode estar relacionado ao policiamento de ovos por partes das operárias. Como explicado anteriormente, as operárias regulam diferentes aspectos dentro das colônias, como por exemplo, a reprodução. Dentro de uma colônia em crescimento, as operárias devem ser mais cuidadosas com os ovos das primeiras gerações, pois a colônia precisa rapidamente de novas fêmeas para atender as necessidades da colônia. As operárias da C3 podem estar vigiando com maior frequência os ovos para determinar sua qualidade e procurar fungos ou parasitóides que possam acabar com a nova população. Também uma colônia maior (C1 e C2) tem uma maior quantidade de operárias para atender os ovos, em relação com uma colônia menor (C3) onde o trabalho é dividido entre poucos indivíduos o que pode ter aumentado também a frequência da inspeção.

As forrageadoras observadas em todas as colônias geralmente se especializavam em carregar um material (líquido ou sólido), mas não em fazer uma tarefa específica dentro do ninho uma vez que a maioria das forrageadoras foi observada realizando outras atividades (Fig. 16). Este resultado é semelhante ao observado por Karsai e Wenzel (2000) onde encontraram uma alta flexibilidade nas tarefas realizadas pelas operárias dentro das colônias de *M. aztecoides* e *M. mesoamericana*, eles argumentam que as decisões feitas pelas operárias dentro das colônias são tomadas num contexto social (sendo afetadas por limitações na quantidade de recursos e de distribuição de operárias no ninho), e não por meio de grupos predeterminados em comportamentos específicos. A flexibilidade de casta encontrada nos Epiponini é muito importante para o desempenho da colônia, uma vez que permite que os indivíduos sejam mobilizados para realizar diferentes tarefas quando for necessário, por exemplo, para defender o ninho ou para substituir a perda de operárias ou quando ocorre uma migração forçada (Karsai & Wenzel, 2000). A flexibilidade para realizar diferentes trabalhos é muito importante em sociedades onde não existem grupos predeterminados em um comportamento, porque permite responder às necessidades da colônia mediante as interações entre as operárias e a exploração do ambiente dentro e fora do ninho (Karsai & Wenzel, 2000).

Diferenças morfológicas entre Rainhas e Operárias

Os dados obtidos neste estudo mostram que não existe diferenciação morfológica significativa entre rainhas e operárias de *M. docilis*, segundo Noll et al.

(2004) em Epiponini valores de Wilks Lambda maiores de 0.5 indicam pouca ou nenhuma diferenciação entre as castas. Para as colônias C2 e C3 os valores de Wilks Lambda eram altos semelhante ao encontrado por Baio et al. (2003), mas para a colônia C1 os valores eram menores de 0.5 o que indica diferenciação de castas entre as fêmeas da colônia. Entretanto os dados não indicam um padrão de diferenciação de casta significativo uma vez que as diferenças encontradas não foram constantes, por exemplo, as rainhas da C1 apresentaram diferenças no tamanho com as operárias, mas não, a forma, as rainhas da C2 só apresentaram diferenças em relação a operárias na forma, e as rainhas da C3 não apresentaram diferenças nem de tamanho nem de forma com as operárias. Também o fato da colônia C3 ser originada de uma migração forçada e não de um enxame reprodutivo dificulta a determinação da fase do ciclo colonial de C3 antes de fundar a nova colônia. A ausência de diferenças morfológicas encontrada entre os indivíduos pode corresponder a uma fase do ciclo diferente à observada, uma vez que quando uma nova colônia é originada a partir de um enxame reprodutivo podem ser encontrados tanto indivíduos jovens como velhos (Noll & Zucchi, 2000, 2002), o que difere de C3, onde todas as fêmeas encontradas eram velhas.

Segundo Noll & Zucchi (2000), colônias em fases iniciais do ciclo colonial apresentam pouca diferenciação morfológica entre as castas, mas conforme o ciclo colonial avança e as rainhas são eliminadas as diferenças morfológicas entre as castas também são maiores. Entretanto, segundo Noll & Zucchi (2002) para algumas espécies de Epiponini como *Metapolybia aztecoides*, *Synoeca cyanea* e *S. surinamensis*, as diferenças morfológicas entre as castas podem estar ausentes durante todo o ciclo colonial. Este resultado é similar ao encontrado neste estudo uma vez que as diferenças entre as castas não estão relacionadas diretamente com o ciclo colonial.

Entretanto, a ausência de uma relação com o ciclo colonial pode estar relacionada à dificuldade para estabelecer em que fase do ciclo colonial estavam as diferentes colônias no momento da coleta como explicado anteriormente, uma vez que Baio et al. (2003) encontraram maior diferenciação entre castas para *M. docilis* durante as fases avançadas do ciclo colonial. Para determinar se a diferenciação de castas em *M. docilis* está relacionada ou não com o ciclo colonial é necessário coletar mais ninhos para obter diferentes fases do ciclo colonial para fazer as comparações, e preferencialmente utilizar ninhos originados a partir de um enxame reprodutivo.

Portanto, pode-se dizer que a diferenciação de castas encontrada em *M. docilis* é débil e quase ausente, demonstrando que dentro da espécie não há castas morfológicas distintas, o que está de acordo com o observado para esta espécie anteriormente (Baio et al., 2003) e para o gênero como um todo (Noll et al., 2004). O fato de se ter encontrado uma marcada diferenciação fisiológica entre os ovários das rainhas e das operárias mostra que existe controle na reprodução, mas para *M. docilis* a determinação de castas é feita mediante controle comportamental e não por manipulação larval como foi observado durante este estudo e com tem sido sugerido por vários autores (West- Eberhard, 1978; Baio et al., 2003; Noll et al., 2004).

Considerações finais

De maneira geral podemos concluir que nas colônias de *M. docilis* existe um controle na reprodução das fêmeas que provavelmente é feito de forma comportamental, onde as operárias e as rainhas testam a capacidade reprodutiva das

outras rainhas mediante *displays* de dominância para decidir que fêmeas continuam encarregando-se de produzir novos indivíduos. Entretanto, sugere-se que nas colônias estudadas o controle reprodutivo não é feito mediante comportamentos agressivos, mas sim mediante mudança de trabalho. As operárias, além de controlar a reprodução (mediante o policiamento de ovos) e selecionar as rainhas, encarregam-se de regular todos os outros aspectos dentro da colônia, explorando o ambiente e provendo as necessidades do ninho, além de tomar as decisões num contexto social e não por meio de grupos predeterminados de comportamentos específicos, o que permite ter uma alta flexibilidade de casta e uma mobilização das fêmeas para realizar diferentes tarefas que incluem não somente trabalho de operárias, mas também o trabalho reprodutivo quando for necessário.

Referências Bibliográficas

Baio, M. V. 2002. Diferenciação de castas e aspectos relacionados ao ciclo colonial de algumas vespas do Brasil. (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini). Dissertação de Doutorado, Departamento de Biologia, FFCLRP-USP. Ribeirão Preto SP. - USP, 125 p.

Baio, M.V., F.B. Noll & R. Zucchi. 2003. Shape differences rather than size

differences between castes in the Neotropical swarm-founding wasp *Metapolybia docilis* (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini). BMC Evolutionary Biology. 3: 10p.

Bourke, A.F.G. 1999. Colony size, social complexity and reproductive conflict in social insects. Journal of Evolutionary Biology. 12: 245-257.

Carpenter, J. M. 1982. The phylogenetic relationships and natural classification of Vespoidea. (Hymenoptera). Syst. Entomol. 7: 11-38.

Gelin, L.F.F., J.D. Da Cruz, F.B. Noll, E. Giannotti, G.M. De Santos & C.C. Bichara Filho. 2008. Morphological Caste Studies In The Neotropical Swarm-Founding Polistinae Wasp *Angiopolybia pallens* (Lepeletier) (Hymenoptera: Vespidae). Neotropical Entomology. 37(6): 691-701.

Hanson, P & I.D. Gauld. 2006. Hymenoptera de la Región Neotropical. Capítulo 15: Familia Vespidae. Memoirs of the American Entomological Institute, Florida. USA. 77: 1-997.

Hastings, M.D., D.C. Queller, F. Eischen & J.E. Strassmann. 1998. Kin Selection, relatedness, and worker control of reproduction in a large-colony epiponine wasp, *Brachygastra mellifica*. Behavioral Ecology. 9 (6): 573-581.

Herman, R.A., D. C, Queller & J.E, Strassmann. 2000. The role of queens in colonies

of the swarm-founding wasp *Parachartergus colobopterus*. *Animal Behaviour*. 59: 841-848.

Hunt, J.H., R.L. Jeanne, I. Baker, D.E. Grogan. 1987. Nutrient Dynamics of a Swarm-founding Social Wasp Species, *Polybia occidentalis* (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology*. 75: 291-305.

Jeanne, R.L. 1991. The swarm-founding Polistinae. In: Ross, K. G. and Matthews, R. W. [Eds]. *The Social Biology of Wasps*. Cornell University Press. New York. 678 pp.

Jeanne, R.L. 1995. Non- Size- Based Morphological castes in Social Insect. *Naturwissenschaften* 82, 296-298.

Jeanne, R.L. 1996. Non- allometric queen-worker dimorphism in *Pseudopolybia difficilis* (Hymenoptera: Vespidae). *Journal of Kansas Entomological Society* 69(4): 370-374.

Karsai, I & J.W, Wenzel. 2000. Organization and Regulation of Nest Construction Behaviour in *Metapolybia* wasp. *Journal of Insect Behaviour*. 13(1): 111-140.

Mateus, S., F.B, Noll & R, Zucchi. 2004. Caste flexibility and variation

according to the colony cycle in the swarm- founding wasp, *Parachartegus fraternus* (Hymenoptera: Vespidae: Epiponi). Journal Kansas Entomological Society. 77(4): 281-294.

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

Michener, C. D. (2000). "The Bees of the World." Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, MD.

Nascimento, F. S., I.C. Tannure- Nascimento and R. Zucchi. 2004. Behavioral mediators of cyclical oligogyny in the Amazonian swarmfounding wasp *Asteloea ujhelyii* (Vespidae, Polistinae, Epiponini). Insectes Sociaux. 51: 17-23.

Naumann, M.G. 1970. The nesting behavior of *Protopolybia pumila* (Sassure, 1863) (Hymenoptera: Vespidae) in Panamá. Doctoral Dissertation. University of Kansas, Kansas.

Noll, F.B. 2005. Reproductive caste in Neotropical Swarming wasps (Hymenoptera: Vespidae; Epiponini): a comprehensive analysis. Trends in Entomology. 4: 60-66.

Noll, F.B., J.W, Wenzel & R, Zucchi. 2004. Evolution of caste in Neotropical

Swarm- Founding Wasps (Hymenopter: Vespidae; Epiponini). American Museum Novitates. 3467: 24p.

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

Noll, F.B & R, Zucchi. 2000. Increasing caste differences related to life cycle progression in some neotropical swarm-founding polygynic polistinae wasps (Hymenoptera Vespidae Epiponini). Ethology Ecology and Evolution. 12: 43-65.

Noll, F.B & R, Zucchi. 2002. Castes and the influence of the colony cycle in swarm- founding polistine wasps (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini). Insectes Sociaux. 49: 62-74.

Queller, D & E, Tóth. 2002. Genetic and behavioral conflict over male production between workers and queens in the stingless bee *Paratrigona subnuda*. Behav Ecol Sociobiol. 53: 1-8.

Richards, O.W. 1971. The biology of the social wasps (Hymenoptera, Vespidae). Biol. Rev. 46: 483-528.

Richards, O.W. 1978. The Social Wasp of America, Excluding the Vespinae. London: British Museum (Natural History).

Strassmann, J.E., C.R. Solís, C.R. Hughes, K.F. Goodnight & D.C. Queller. 1997.

Colony life history and demography of swarm-founding social wasp. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 40: 71-77.

Strassmann, J.E., B.W. Sullender & D.C. Queller. 2002. Caste totipotency

and conflict in a large- colony social insect. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences.* 269(1488): 263-270.

Wenzel, J.W. & J.M. Carpenter. 1994. Comparing methods: Adaptive traits and tests of

adaptation. In P. Eggleton and R.I. Vane- Wright (eds.), *Phylogenetics and ecology*: 79-101. London: Academic Press.

Wenzel, J.W. 1998. A generic key to the Nest of Hornets, Yellow jackets, and paper

wasp worldwide (Vespidae: Vespinae: Polistinae). *American Museum Novitates.* 3224: 39p.

West-Eberhard, M.J., 1973. Monogyny in “polygynous” social wasps. *Proc. VII Congr.*

IUSSI, London, 396–403.

West-Eberhard, M.J., 1978. Temporary queens in *Metapolybia* wasps: non-reproductive

helpers without altruism? *Science* 200, 441–443.

West-Eberhard, M.J. 1981. Intragroup selection and the evolution of insect societies. In:

Natural Selection and Social Behavior (R.D. Alexander and D.W. Tinkle, Eds.),
Chiron Press, New York. 3–17pp.

West- Eberhard, M.J. 1982. The nature evolution of swarming in tropical social wasps
(Vespidae: Polistinae: Polybiini). In: Social insects in the tropics, vol 1, (Jaisson P,
ed). Paris: University of Paris XIII Press. 97-128 pp.