

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

Estratégias de utilização de recursos em vespas parasitas do
mutualismo figueiras - vespas de figo

Larissa Galante Elias

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

Ribeirão Preto – SP

2008

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

Estratégias de utilização de recursos em vespas parasitas do
mutualismo figueiras - vespas de figo

Larissa Galante Elias

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Augusto Santinelo Pereira

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

Ribeirão Preto – SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA

Elias, Larissa Galante

Estratégias de utilização de recursos em vespas parasitas do mutualismo figueiras - vespas de figo. Ribeirão Preto, 2008. 42p.

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

Orientador: Rodrigo Augusto Santinelo Pereira

1. Agaonidae, 2. *Ficus*, 3. Moraceae, 4. microhimenóptera, 5. polinização

Índice Geral

RESUMO	6
ABSTRACT	7
1. Introdução.....	8
2. Material e métodos	15
Área de estudo e espécies estudadas	15
Seqüência de colonização dos sicônios.....	18
Desenvolvimento de <i>Idarnes</i> na ausência da espécie polinizadora.....	20
Recursos utilizados por <i>Idarnes</i> grupos <i>flavicollis</i> e <i>carne</i>	21
Local de deposição dos ovos de <i>Idarnes</i> grupos <i>flavicollis</i> e <i>carne</i>	23
Análise dos dados.....	23
3. Resultados	24
Seqüência de colonização dos sicônios.....	24
Desenvolvimento de <i>Idarnes</i> na ausência da espécie polinizadora.....	25
Recursos utilizados por <i>Idarnes</i> grupos <i>flavicollis</i> e <i>carne</i>	27
Local de deposição dos ovos de <i>Idarnes</i> grupos <i>flavicollis</i> e <i>carne</i>	29
4. Discussão.....	35
5. Considerações finais.....	39
6. Referências bibliográficas	40



ÀS VEZES EU ACHO QUE O SINAL MAIS EVIDENTE DE QUE EXISTE VIDA INTELIGENTE EM ALGUM LUGAR DO UNIVERSO, É O DE QUE NINGUÉM ATE AGORA TENTOU ENTRAR EM CONTATO CONOSCO.

Agradecimentos

À FAPESP (#2006/01981-1) e à CAPES pela concessão de bolsa de mestrado.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Augusto Santinelo Pereira pela orientação e por toda a dedicação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, por possibilitar a realização do trabalho.

À FAPESP pelo Auxílio Jovem Pesquisador (#04/10299-4) que financiou o desenvolvimento desse trabalho.

À Profa. Dra. Simone de Pádua Teixeira do Depto de Ciências Farmacêuticas da FCFRP-USP pela atenção, pela orientação no estudo histológico e pela utilização do laboratório de anatomia vegetal e equipamentos de fotodocumentação

A Vani Maria Alves Corrêa, do Laboratório de Histologia do Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos/FMRP-USP pelo auxílio técnico.

Ao Dr. Finn Kjellberg do CNRS-Montpellier pela discussão do projeto e dos resultados.

Aos membros da banca pelo aceite do convite.

Aos meus pais, meu irmão e toda minha família pelo apoio e compreensão, apesar da distância.

A Carol, Paty, Carol, Gabi e Renata, pelo incentivo e apoio.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia Vegetal: Alison, Anayra, Fernando, Lauren, Luciano, Ludmila, Luís, Márcia, Mariana, Monise, Nicole, Pamela, Sérgio e Vanessa pela colaboração e amizade.

Aos amigos da biologia: Túlio, Mari, Fabi, Busunda, Pri, Sapão, Zé Renato, Lampréia, Axé, Piroca, Gu, Zezim e mais um monte de gente, pela amizade, pelas risadas e pelo incentivo.

Ao Laboratório de Paleontologia, por me acolher como população flutuante.

Ao Felipe, por ter sempre estado presente e por ter ajudado de todas as formas possíveis.

Estratégias de utilização de recursos em vespas parasitas do mutualismo figueiras - vespas de figo

RESUMO

Interações ecológicas interespecíficas que resultam em benefício para todos os organismos participantes são conhecidas como mutualismo. No entanto, a troca de benefícios apresenta custos para as espécies participantes. Este fato abre espaço para o surgimento de espécies que adotam estratégias oportunistas, denominadas parasitas de mutualismos. As plantas do gênero *Ficus* são adequadas para estudos dessas interações, pois apresentam relação mutualística com vespas polinizadoras da família Agaonidae e são exploradas por vespas não-polinizadoras (parasitas do mutualismo). O objetivo desse estudo foi elucidar a biologia larval de vespas não-polinizadoras do gênero *Idarnes* pertencentes aos grupos *carne* e *flavicollis* associadas a *Ficus citrifolia* no campus da USP em Ribeirão Preto. Foi possível elucidar que a espécie de *Idarnes* do grupo *flavicollis* é galhadora, ao passo que a espécie do grupo *carne* é incapaz de induzir galhas, sendo provavelmente inquilinas específicas da espécie polinizadora. Vespas *flavicollis* ovipositam nos sicônios antes da polinização e evitam a retaliação pela planta, adotando mecanismo de oviposição semelhante ao das vespas polinizadoras. Vespas *carne*, por sua vez, depositam seus ovos diretamente dentro do saco embrionário de flores já galhadas, onde se localiza a larva da polinizadora. Contrariando especulações prévias, os resultados mostram que mesmo em espécies próximas filogeneticamente, *e.g.* grupos *flavicollis* e *carne* do gênero *Idarnes*, podem ocorrer variações acentuadas na biologia e na estratégia de exploração de recursos.

Palavras-chave: Agaonidae, *Ficus*, Moraceae, microhimenóptera, polinização.

Strategies of resource utilization in parasitic fig wasps

ABSTRACT

Interspecific ecological interactions which benefit all participants are known as mutualisms. However, the benefit exchange implies in costs for the involved species. This fact enables the appearance of species adopting opportunist strategies, known as parasites of mutualism. Plants belonging to the genus *Ficus* are suitable for studying these ecological interactions since they show a mutualistic interaction with pollinating wasps belonging to Agaonidae family and are exploited by non-pollinating wasps (parasites of the mutualism). The aim of this study was to elucidate the larval biology of non-pollinating fig wasps, genus *Idarnes*, belonging to *flavicollis* and *carne* species groups, associated with *Ficus citrifolia* at USP campus in Ribeirão Preto. We showed that species of *flavicollis* group are gallers, while species of *carne* group were not able to induce galls, probably being specific inquilines of the pollinating species. *flavicollis* wasps oviposit in syconia before receptivity and avoid retaliation by the plant, adopting a similar mechanism of oviposition to the one of the pollinators. *carne* wasps, on the other hand, deposit their eggs directly inside the embryonic sac of already galled flowers, where the pollinator larva is located. In disagreement with previous speculations, the results show that even in phylogenetically close species, such as *flavicollis* and *carne* species groups, there may be considerable variation in biology and resource exploitation strategies.

Key words: Agaonidae, *Ficus*, Moraceae, microhymenoptera, pollination.

Estratégias de utilização de recursos em vespas parasitas do mutualismo

figueiras - vespas de figo

1. Introdução

Interações ecológicas interespecíficas que resultam em benefício para todos os organismos participantes são conhecidas como mutualismo (Begon *et al.* 2006). No entanto, a troca de benefícios apresenta custos para as espécies participantes. Este fato abre espaço para o surgimento de estratégias oportunistas (ou de trapaça), representadas por indivíduos que recebem o benefício de um dos parceiros sem oferecer nada em troca. As espécies que adotam a estratégia de trapaça são denominadas parasitas de mutualismos (Yu 2001). A interação figueiras – vespas de figo é um sistema adequado para o estudo dessas interações ecológicas. As plantas do gênero *Ficus* Tourn ex Linn. (Moraceae) apresentam uma relação mutualística e específica com pequenas vespas polinizadoras da família Agaonidae, que utilizam os ovários das flores pistiladas para depositar seus ovos. As plantas também são exploradas por espécies de vespas não-polinizadoras, em geral da superfamília Chalcidoidea, consideradas parasitas do mutualismo (Weiblen 2002).

Ficus é o maior gênero da família Moraceae, com cerca de 750 espécies distribuídas na região pantropical, pertencentes a seis sub-gêneros (*Ficus*, *Sycidium*, *Sycomorus*, *Synoecia*, *Pharmacosycea* e *Urostigma* (Rønsted *et al.* 2008)). Na América, ocorrem aproximadamente 140 espécies, pertencentes aos sub-gêneros *Urostigma* e *Pharmacosycea* (Berg 1989). No Brasil, são conhecidas 59 espécies nativas, cinco pertencentes ao sub-gênero *Pharmacosycea* e 54 ao sub-gênero *Urostigma* (Carauta 1989).

O gênero é caracterizado por uma inflorescência globosa denominada sicônio (ou figo), no interior da qual as flores estão inseridas. As flores pistiladas se desenvolvem em aquênios (Verkerke 1989), cuja produção representa a função feminina da planta, enquanto que a

dispersão de pólen pelas fêmeas de vespas polinizadoras constitui a função masculina da planta.

O ciclo de desenvolvimento do sicônio e das vespas de figo pode ser dividido em cinco fases (Galil & Eisikowitch 1968 – Tabela 1 e Figura 1). Nas espécies monóicas, esse ciclo pode ser resumido da seguinte forma: as fêmeas de vespas polinizadoras, fecundadas e carregadas de pólen, são atraídas por substâncias voláteis liberadas pelos sicônios receptivos (Grison-Pigé *et al.* 2002). As vespas fêmeas (fundadoras) adentram a inflorescência através de uma abertura denominada ostíolo e realizam a polinização das flores pistiladas, ainda utilizando-se dos ovários de algumas delas para depositar seus ovos. As flores que recebem ovos transformam-se em galhas, onde a prole de vespas se desenvolve no lugar dos aquênios. Durante a fase de desenvolvimento da prole de vespas, as larvas se alimentam do endosperma formado após a fertilização, sendo que o embrião da planta desaparece (Verkerke 1989).

Algumas semanas mais tarde (aproximadamente quatro a seis semanas), próximo ao final do ciclo de desenvolvimento do sicônio, as flores estaminadas amadurecem e a prole de vespas completa seu desenvolvimento. Os primeiros a emergir são os machos, os quais localizam e copulam as fêmeas, que ainda estão em suas galhas. As fêmeas fecundadas emergem, coletam o pólen (em algumas espécies, as fêmeas não coletam o pólen, transportando-o passivamente sobre o corpo) e abandonam o sicônio, por um orifício aberto pelos machos na parede do mesmo, em busca de uma árvore com inflorescências receptivas (Bronstein 1992, Kjellberg *et al.* 2005). Logo depois, os sicônios completam seu amadurecimento, tornando-se atrativos para várias espécies de vertebrados frugívoros que atuam como dispersores (Shanahan *et al.* 2001).

Tabela 1: Fases do desenvolvimento do sicônio e das vespas polinizadoras de espécies monóicas de *Ficus*, segundo Galil & Eisikowitch (1968).

Fase	Descrição
A (pré-feminina)	Flores pistiladas do sicônio imaturas.
B (feminina)	Figo receptivo. Liberação de voláteis e atração de fundadoras.
C (interfloral)	Período de desenvolvimento da prole de vespas e dos aquênios.
D (masculina)	Emergência da prole de vespas e maturação das flores estaminadas.
E (pós-floral)	Dispersão da prole de vespas e amadurecimento do sicônio.

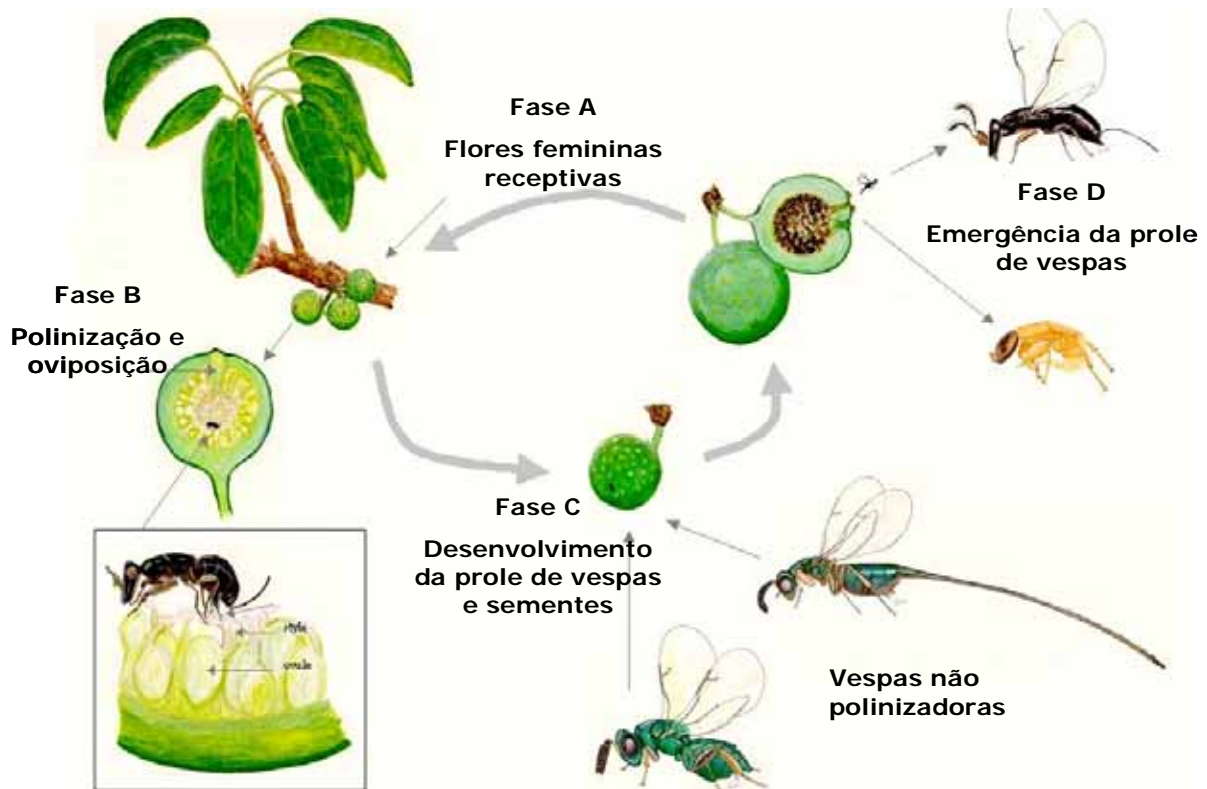


Figura 1: Ciclo de desenvolvimento dos sicônios e vespas de figo em espécies monóicas de *Ficus*. Modificado de Simon van Noort (www.figweb.org).

A complexidade do mutualismo *Ficus* – vespas de figo aumenta pela ocorrência de vespas não-polinizadoras (Figura 1). Essas vespas utilizam o sicônio para desenvolver suas proles, mas não realizam polinização, uma vez que geralmente depositam seus ovos pelo lado externo, inserindo seus longos ovipositores através da parede do sicônio (Yu 2001, Weiblen 2002), sendo que o comprimento de seus ovipositores está fortemente correlacionado à espessura da parede do sicônio da espécie hospedeira de *Ficus* (Kerdelhué & Rasplus 1996, Zhen *et al.* 2005). A biologia dessas vespas é variada, podendo ser galhadoras, inquilinas (cleptoparasitas) ou parasitóides (Abdurahiman & Joseph 1978, Weiblen 2002). As galhadoras são fitófagas e induzem galhas nas flores pistiladas do sicônio. Sugere-se que a indução de galhas (proliferação do tecido nucelar (Verkerke 1987)) é relacionada a uma secreção ácida liberada pela vespa no momento da oviposição. Essa hipótese é corroborada pelo fato de glândulas associadas ao aparelho reprodutor das vespas serem observadas somente em espécies galhadoras (Abdurahiman & Joseph 1978). Essas vespas colonizam o sicônio um pouco antes ou no mesmo período em que as polinizadoras, sendo atraídas por compostos voláteis específicos liberados pelos sicônios (Profitt *et al.* 2007). Especula-se que as vespas inquilinas também sejam fitófagas, mas incapazes de induzir galhas. Elas colonizam o sicônio algum tempo após as espécies galhadoras, ovipõem em galhas já induzidas e se alimentam do tecido vegetal, matando a larva da espécie galhadora por inanição. As espécies parasitóides, por sua vez, desenvolvem suas proles parasitando as larvas de espécies fitófagas e são as últimas a colonizar o sicônio. Vespas inquilinas e parasitóides também são atraídas por substâncias voláteis específicas, liberadas em determinada fase do desenvolvimento dos sicônios (Profitt *et al.* 2007). A emergência sincronizada de todas as espécies, independente da seqüência de oviposição e biologia, está relacionada a diferentes taxas de crescimento larval entre as espécies (Kerdelhué & Rasplus 1996).

A posição taxonômica das vespas não-polinizadoras ainda não está clara, mas a maioria das sub-famílias foi designada a famílias de Chalcidoidea que não Agaonidae. No entanto, duas sub-famílias (Sycophaginae e Epichrysomallinae) e dois gêneros (*Heterandrium* e *Aepocerus*) não puderam ser classificados em nível de família, havendo a necessidade de mais estudos. Segundo a filogenia proposta, Agaonidae aparece como um grupo monofilético, basal aos outros Chalcidoidea. A polinização por vespas Agaonidae surgiu, aparentemente, uma única vez na história evolutiva do mutualismo. Por outro lado, cada grupo de não-polinizadoras provavelmente evoluiu independentemente (Rasplus *et al.* 1998).

As interações entre vespas não-polinizadoras e o mutualismo *Ficus* - vespas de figo são complexas e praticamente desconhecidas para a maioria das espécies. Estudos sobre a biologia de vespas não-polinizadoras foram feitos, em sua maioria, de forma indireta, com base em dados populacionais (West & Herre 1994, West *et al.* 1996, Kerdelhué *et al.* 2000 e Marussich & Machado 2007), sendo que abordagens objetivas sobre a biologia dessas vespas são necessárias. As vespas não-polinizadoras afetam negativamente a função feminina da planta, ovipositando em ovários que poderiam produzir aquênios; e também a produção de vespas polinizadoras dispersoras de pólen (função masculina da planta). Os efeitos sobre o mutualismo variam de acordo com a ecologia e biologia das vespas não-polinizadoras envolvidas (Bronstein 1992): as espécies galhadoras interferem tanto na produção de aquênios quanto na de polinizadoras, competindo por sítios de oviposição. As espécies inquilinas e parasitóides apresentariam um efeito direto apenas sobre a função masculina da planta (prole de vespas polinizadoras).

No Novo Mundo, o gênero de vespas não-polinizadoras mais diverso e geralmente mais abundante é *Idarnes* Walker (Sycophaginae) (Gordh 1975), que parasita o mutualismo entre as espécies de *Ficus* do sub-gênero *Urostigma*, seção *Americana* e suas polinizadoras, do gênero *Pegoscapus* (Bouček 1993). *Idarnes* é dividido em três grupos: *incerta*, que apresenta

espécies com machos e fêmeas alados, e os grupos *carne* e *flavicollis*, que apresentam espécies com fêmeas aladas com ovipositores longos e machos ápteros (Bouček 1993). Baseado em dados indiretos, West & Herre (1994), West *et al.* (1996) e Marussich & Machado (2007) especularam que as espécies dos grupos *carne* e *flavicollis* sejam fitófagas galhadoras. No entanto, um estudo detalhado demonstrou que as espécies desses dois grupos apresentam ecologias e biologies distintas. Elias *et al.* (2008) observaram que uma espécie do grupo *flavicollis* associada a *Ficus citrifolia* Mill. coloniza os sicônios um pouco antes que a espécie polinizadora. Outras três espécies pertencentes ao grupo *carne* colonizam os sicônios de *F.citrifolia* de uma a três semanas após a polinização e depositam seus ovos em flores já galhadas. Estas observações sugerem que a espécie do grupo *flavicollis* é fitófaga galhadora e que as espécies do grupo *carne* são inquilinas ou parasitóides.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi elucidar a biologia de vespas do gênero *Idarnes* pertencentes aos grupos *carne* e *flavicollis* associadas a *F. citrifolia*. Mais especificamente, buscou-se:

- a) Avaliar a seqüência de colonização de vespas não-polinizadoras associadas a *F. citrifolia*, comparando o período de colonização das espécies de *Idarnes* e das espécies de outros gêneros.

- b) Avaliar a capacidade das espécies de *Idarnes* dos dois grupos (*flavicollis* e *carne*) se desenvolverem na ausência da polinizadora *Pegoscapus tonduzi*. Assim, se a espécie do grupo *flavicollis* for realmente galhadora, espera-se que ela se desenvolva na ausência da espécie polinizadora. Se a espécie do grupo *carne* for inquilina ou parasitóide não haverá desenvolvimento de prole nos sicônios sem polinizadoras.

- c) Determinar qual recurso (flores não fertilizadas, flores fertilizadas ou galhas com larvas) é utilizado pelas vespas *Idarnes* grupos *flavicollis* e *carne*. Assim, se flores fertilizadas representarem um melhor recurso para a espécie do grupo *flavicollis*, espera-se melhor desenvolvimento da prole dessas vespas em sicônios polinizados. Por outro lado, se a espécie do grupo *carne* utilizar como recurso específico ou preferencial galhas da espécie polinizadora, espera-se que se desenvolva apenas, ou melhor, em sicônios polinizados em comparação a sicônios que apresentem somente outras galhadoras (como *Idarnes* do grupo *flavicollis*).
- d) Determinar o local de deposição dos ovos de *Idarnes* grupos *flavicollis* e *carne* nas flores de *F. citrifolia*.

2. Material e métodos

Área de estudo e espécies estudadas

O trabalho foi realizado em áreas urbanizadas (jardins e gramados) do campus da USP - Ribeirão Preto (21°10'S; 47°48'W) (Figura 2). Seis árvores de *Ficus citrifolia* foram monitoradas ao longo de seus episódios reprodutivos. A árvore 1 foi monitorada de abril a junho de 2006, a árvore 2 de maio a julho de 2006, as árvores 3 e 4 de janeiro a março de 2007 e as árvores 5 e 6 de junho a agosto de 2007. *F. citrifolia* apresenta porte de médio a grande e é a espécie mais abundante de *Ficus* na área de estudo, desenvolvendo-se isoladamente sobre o solo ou como hemi-epífita sobre outras espécies arbóreas e construções (Pereira *et al.* 2006).

Ficus citrifolia é polinizado ativamente por *Pegoscapus tonduzi* e associado a outras 14 espécies de vespas não-polinizadoras (Pereira *et al.* 2000, referido como *F. eximia*). Dentre as espécies não-polinizadoras, o gênero *Idarnes* é o melhor representado, com três espécies com machos ápteros (Figuras 3A e B) [duas do grupo *carne* (*Idarnes* sp.1 e sp.2) e uma do grupo *flavicollis* (*Idarnes* sp.3)] e duas espécies com machos alados (grupo *incerta*, Figuras 3C e D). As espécies *Idarnes* sp.1 e *Idarnes* sp.3 foram escolhidas como espécies modelo para representar os grupos *carne* e *flavicollis*, respectivamente, nas manipulações experimentais desse trabalho. A relação completa das espécies associadas a *F. citrifolia* é apresentada na Tabela 2.



Figura 2: Vista aérea do *campus* da Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto, indicando a localização das árvores estudadas (pontos em amarelo).

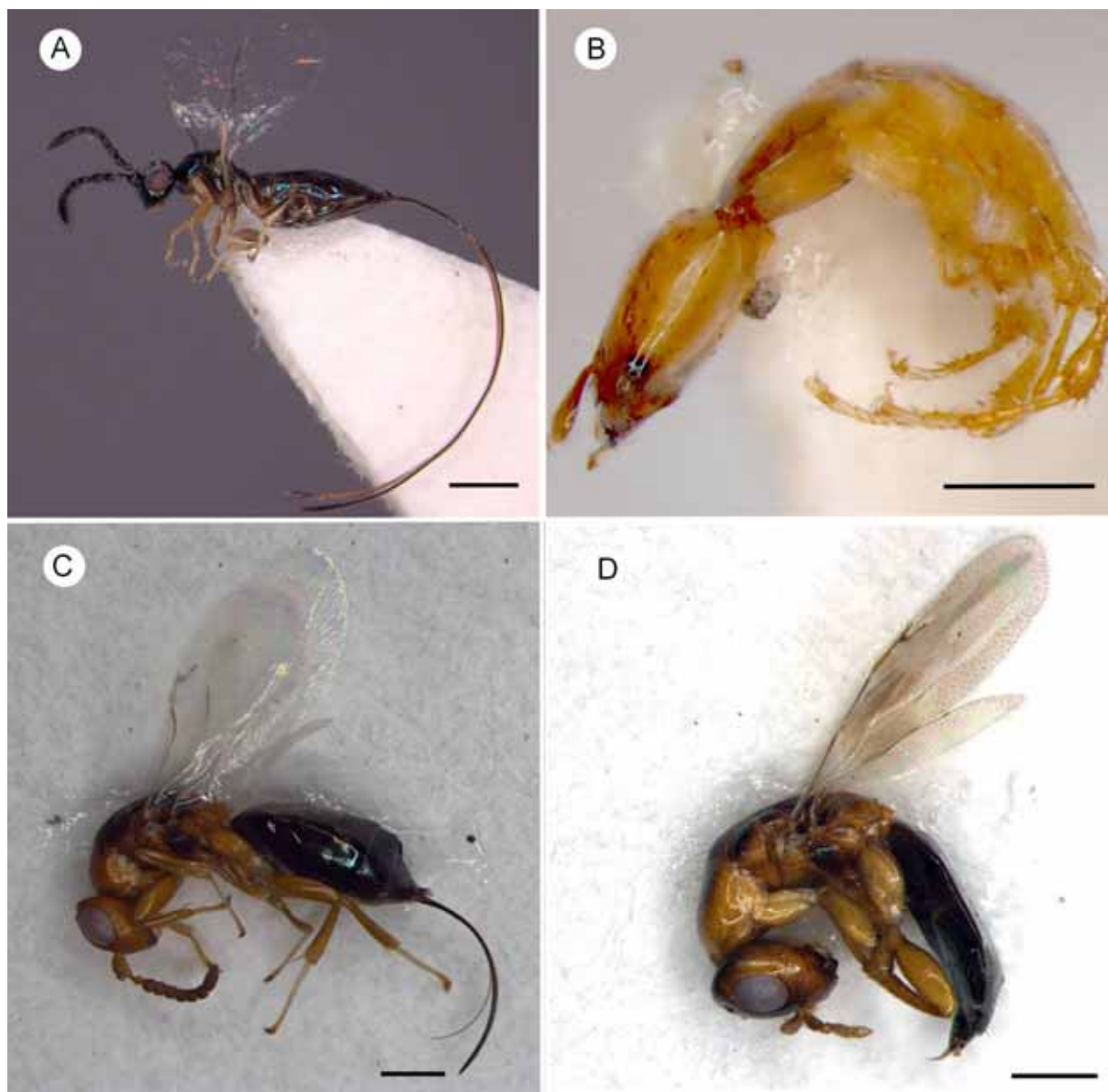


Figura 3: Vespas do gênero *Idarnes*: A: Fêmea alada (grupo *carne*). B: Macho áptero. C: Fêmea do grupo *incerta*. D: Macho alado (grupo *incerta*). Escalas: A e B = 0,3 mm; C e D = 0,5 mm.

Tabela 2: Categorias superiores, número de espécies e características morfológicas de gêneros associados a *Ficus citrifolia*. Ribeirão Preto/SP. Modificado de Pereira *et al.* 2000.

Família	Sub-família	Gênero	Espécies	Machos
Agaonidae (<i>sensu</i> Bouček 1993)	Agaoninae	<i>Pegoscapus</i> Cameron	1	Ápteros
	Sycophaginae	<i>Idarnes</i> grupo <i>carne</i>	3	Ápteros
		<i>Idarnes</i> grupo <i>flavicollis</i>	1	Ápteros
		<i>Idarnes</i> grupo <i>incerta</i>	2	Alados
Pteromalidae (<i>sensu</i> Rasplus <i>et al.</i> 1998)	?	<i>Aepocerus</i> Mayr	1	Alados
		<i>Heterandrium</i> Mayr	2	Ambos
Eurytomidae	-	<i>Eurytoma</i> Illiger	2	Alados
Torymidae	-	<i>Physothorax</i> Mayr	2	Alados
		<i>Torymus</i> Dalman	1	Ápteros, alados e braquípteros

Seqüência de colonização dos sicônios

A seqüência de colonização de espécies de não-polinizadoras associadas a *Ficus citrifolia* foi observada em campo em sicônios na fase pré-feminina (ou pré-floral) e em sicônios polinizados.

Para padronizar o desenvolvimento dos sicônios e evitar que espécies que colonizam mais tardiamente fossem observadas dentre as espécies que colonizam nas fases iniciais, as observações foram realizadas em sicônios polinizados de forma controlada (referidos daqui por diante como sicônios experimentais) e a seqüência de colonização foi expressa em “dias após a polinização” (DAP).

Para tal, cinco ramos com sicônios em fase inicial de desenvolvimento (antes da colonização por qualquer espécie de vespa de figo) foram ensacados com tecido “voil” (Figuras 4A e C), evitando o acesso de qualquer vespa aos sicônios. Os ramos foram mantidos ensacados por aproximadamente uma semana, até atingirem a fase receptiva (fase B),

detectada pela observação de vespas fundadoras nos sicônios não ensacados. No mesmo dia, sicônios na fase D, provenientes de outra árvore de *F. citrifolia*, foram coletados para obtenção de fêmeas polinizadoras. A polinização controlada foi realizada pela introdução de uma polinizadora por sicônios (entre cinco e 10 sicônios por ramo ensacado). Para a introdução da polinizadora, uma vespa foi colocada, com o auxílio de um pincel fino, próximo ao ostíolo e sua entrada no sicônio foi observada.

Os sicônios polinizados foram etiquetados (Figura 4B) e os ramos novamente ensacados para evitar que outras fundadoras colonizassem os sicônios experimentais. Após 24 horas, período suficiente para a conclusão da polinização (Jousselin *et al.* 2003), os sacos foram removidos e os sicônios experimentais monitorados diariamente com relação à visitação de outras vespas.

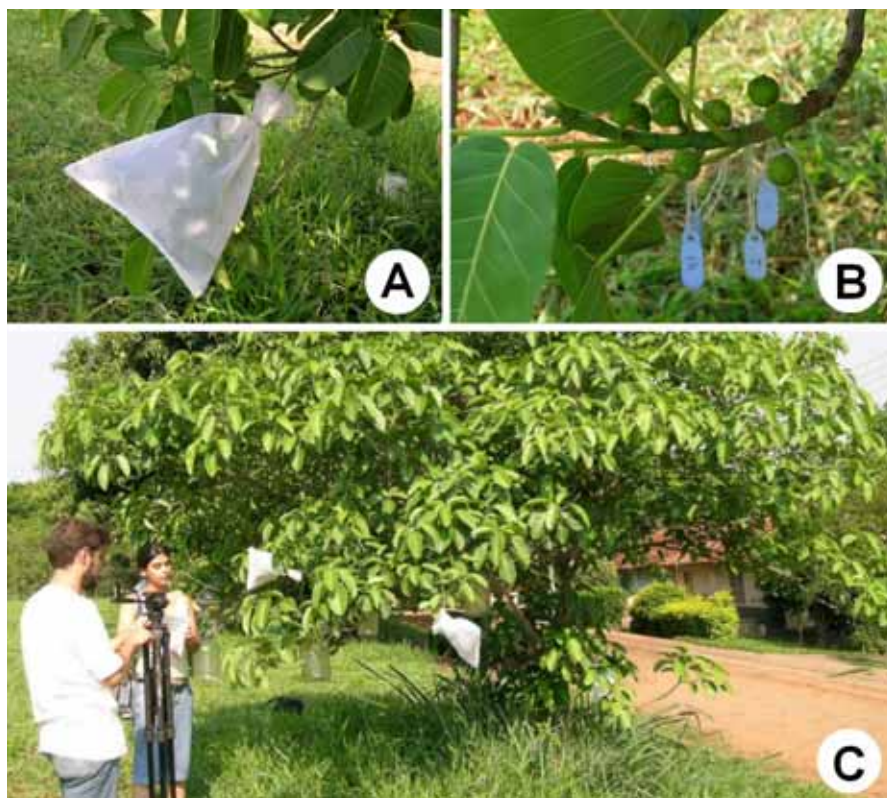


Figura 4: Métodos empregados no estudo. A: Ramo ensacado com tecido “voil”. B: Sicônios experimentais polinizados de forma controlada. C: Árvore de *Ficus citrifolia* no *campus* da USP – RP com experimentos instalados.

Desenvolvimento de *Idarnes* na ausência da espécie polinizadora

Em cada árvore monitorada, 12 ramos com sicônios em fase inicial de desenvolvimento foram ensacados com tecido “voil”. As manipulações consistiram de combinações nas quais as vespas dos grupos *carne* e *flavicollis* foram expostas, separadamente, a sicônios sem a presença de polinizadoras (Tabelas 3 e 4, combinações 1 e 2). As fêmeas de *Idarnes* utilizadas nas manipulações foram coletadas em sicônios de outra árvore de *Ficus citrifolia* na fase D.

Tabela 3: Desenvolvimento de *Idarnes* grupo *flavicollis* e grupo *carne* na ausência e presença da espécie polinizadora.

Combinação	Metodologia
(1) não-polinizados x <i>flavicollis</i>	10 fêmeas de <i>flavicollis</i> inseridas por ramo ensacado, sem polinização.
(2) não-polinizados x <i>carne</i>	10 fêmeas de <i>carne</i> inseridas por ramo ensacado, sem polinização, no mesmo dia que a combinação 1.
(3) polinização x <i>flavicollis</i>	10 fêmeas de <i>flavicollis</i> inseridas por ramo ensacado 1 dia após a polinização.
(4) <i>flavicollis</i> x polinização	10 fêmeas de <i>flavicollis</i> inseridas por ramo ensacado e, após 1 dia, os figos foram polinizados de forma controlada.
(5) polinização x <i>carne</i>	10 fêmeas de <i>carne</i> inseridas por ramo ensacado 15 dias após a polinização.*
(6) <i>flavicollis</i> x <i>carne</i>	10 fêmeas de <i>flavicollis</i> inseridas por ramo ensacado, sem polinização, no mesmo dia que a combinação 1. Após 15 dias, 10 fêmeas de <i>carne</i> foram inseridas por ramo ensacado.

*O período de colonização da espécie do grupo *carne* foi estipulado com base em observações preliminares (Elias *et al.* 2008).

Tabela 4: Tamanho amostral para as manipulações de desenvolvimento de prole de *Idarnes* grupo *flavicollis* e grupo *carne*. N ~ 20 sicônios por combinação por árvore (10 sicônios x 2 ramos ensacados).

Combinação	Nº de árvores	Número total de sicônios experimentais
(1) não-polinizados x <i>flavicollis</i>	3	29
(2) não-polinizados x <i>carne</i>	3	0
(3) polinização x <i>flavicollis</i>	4	19
(4) <i>flavicollis</i> x polinização	3	33
(5) polinização x <i>carne</i>	3	27
(6) <i>flavicollis</i> x <i>carne</i>	5	24

Recursos utilizados por *Idarnes* grupos *flavicollis* e *carne*

Para avaliar o recurso (flores fertilizadas ou não fertilizadas) utilizado por vespas *Idarnes* grupo *flavicollis*, as vespas foram expostas a sicônios previamente polinizados e a sicônios que foram polinizados posteriormente (Tabelas 3 e 4, combinações 3 e 4). No caso de *Idarnes* grupo *carne*, para avaliar se há especificidade do recurso utilizado (galhas), as vespas foram expostas a sicônios com galhas da polinizadora (Tabelas 3 e 4, combinação 5) e a sicônios com galhas de *flavicollis* (Tabelas 3 e 4, combinação 6). A polinização controlada para essas manipulações foi feita da mesma forma descrita anteriormente.

Para avaliar a preferência de *flavicollis* por sicônios polinizados ou não polinizados, três ramos em uma árvore com figos em fase inicial de desenvolvimento foram ensacados, conforme descrito anteriormente. No período receptivo, metade dos sicônios do ramo foi polinizada de forma controlada. Todos os sicônios foram etiquetados para posterior identificação do tratamento. Nos dois dias subsequentes, 10 fêmeas de *flavicollis* foram inseridas por ramo ensacado. As fêmeas tiveram a possibilidade de ovipositar tanto em sicônios polinizados quanto em não-polinizados.

Após a alocação das vespas para todas as combinações (Tabelas 3 e 4), os ramos foram mantidos ensacados até próximo à fase de emergência da prole de vespas. Nesta fase,

os sicônios foram coletados, individualizados em frascos plásticos de 50 mL e mantidos por aproximadamente 48h para emergência das vespas.

As variáveis medidas (variáveis resposta) das manipulações foram:

- ✓ Formação de galhas;
- ✓ N° de vespas (*carne* ou *flavicollis*) desenvolvidas por sicônio, que mediu a capacidade das vespas em se desenvolverem na ausência da espécie polinizadora;
- ✓ Tamanho das vespas (comprimentos do mesossoma, da tíbia e do ovipositor), medido em até 15 vespas por sicônio, o qual expressou possíveis efeitos da qualidade do recurso alimentar (sicônio polinizado e não-polinizado);
- ✓ Taxa de aborto dos sicônios. Para os tratamentos envolvendo polinização, as taxas de aborto foram calculadas dividindo-se o número de sicônios abortados pelo número total de sicônios polinizados. No caso dos tratamentos em que os sicônios foram expostos somente a fêmeas de *Idarnes*, a taxa de aborto foi calculada dividindo-se o número de sicônios abortados com galhas pelo total de sicônios ovipostos (sicônios abortados com galhas + sicônios com prole de *Idarnes*).

O diâmetro dos sicônios experimentais não diferiu significativamente do diâmetro de outros sicônios da árvore (provenientes de ramos não ensacados) ($n = 23$ sicônios por tratamento; $t_{43,8} = -0,07$; $P = 0,94$), sugerindo que o procedimento de ensacamento dos ramos não alterou o crescimento e desenvolvimento dos sicônios, conforme constatado por Galil & Eisikowitch (1971).

Local de deposição dos ovos de *Idarnes* grupos *flavicollis* e *carne*

Para avaliar o local de deposição do ovo, vespas não-polinizadoras observadas ovipondo em sicônios não experimentais foram mortas com algumas gotas de clorofórmio. O sicônio foi, então, coletado e levado para laboratório, onde a vespa foi identificada e a fase de desenvolvimento do sicônio determinada.

Na seqüência, o sicônio foi cuidadosamente dissecado para localização da extremidade do ovipositor. Quando a oviposição ocorria, a flor na qual o ovipositor estava inserido foi individualizada, fixada por 24h em FAA 50, lavada por 30 min. em álcool 50% e, por fim, estocada em álcool 70% (Johansen 1940) para posterior análise histológica. Para tal, o material foi desidratado em série álcool-xilólica, tratado com óleo terpeniol, incluído em parafina e seccionado transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo (6-8 μ m). As seções foram coradas com Safranina e Azul de Astra e montadas em resina sintética (Gerlach 1969) e as lâminas foram avaliadas em microscópio convencional de luz. Foram observadas 10 flores ovipositadas por vespas *Idarnes* grupo *flavicollis* e 10 outras por *carne*.

Análise dos dados

A seqüência de colonização foi avaliada graficamente por meio de diagramas de caixas. Para cada espécie observada de vespa, foi avaliado o número de dias após a polinização que as vespas foram observadas colonizando os sicônios experimentais.

Para análise das manipulações de biologia larval e utilização de recursos, nas combinações em que os resultados foram claramente diferentes (*e.g.* ausência de formação de galhas *vs.* ~ 100% de formação de galhas) não foram utilizados testes formais de hipóteses. Quando necessário, as variáveis resposta (formação de galhas, número de vespas por sicônio e tamanho das vespas) foram comparadas por teste t (Zar 1996). O local de deposição dos ovos e os prováveis recursos utilizados pelas larvas foram avaliados de forma descritiva.

3. Resultados

Seqüência de colonização dos sicônios

Experimentos preliminares, realizados antes do início do desenvolvimento deste projeto de mestrado, mostraram uma partição temporal na seqüência de colonização dos sicônios pelas vespas não polinizadoras em duas árvores de *Ficus citrifolia*. Esse estudo foi repetido e os resultados corroboraram os dados obtidos anteriormente.

Fêmeas de *Idarnes* grupo *incerta* foram observadas ovipondo em sicônios bastante pequenos, ainda sem lúmen definido, sete a 12 dias antes da receptividade (Fase B). Fêmeas de *Idarnes* grupo *flavicollis*, por sua vez, foram observadas ovipondo em sicônios a partir de uma semana antes do período receptivo (Figura 5).

Fêmeas de *Idarnes* grupo *carne* foram observadas ovipondo em sicônios experimentais por um período longo, do sexto ao 24º DAP. Fêmeas de *Torymus* e *Physothorax* foram observadas mais tarde, do 12º ao 40º DAP (Figura 5).

Além do método de observação em sicônios experimentais, a seqüência de colonização foi avaliada nas duas primeiras árvores por meio de vespas capturadas diariamente em armadilhas adesivas (garrafas plásticas com 1.176 cm² cobertas com cola entomológica [Biocontrole ©]). Polinizadoras (*Pegoscapus tonduzi*) e fêmeas de *Idarnes* grupo *incerta* e grupo *flavicollis* foram capturadas no início do período de monitoramento. Espécies de *Idarnes* grupo *carne* foram capturadas a partir do início da fase interfloral, com um pico em torno do 15º dia de monitoramento. Espécies de *Heterandrium*, *Eurytoma*, *Torymus* e *Physothorax* ocorreram mais tarde, com sobreposição no período de captura (Elias *et al.* 2008).

Desenvolvimento de *Idarnes* na ausência da espécie polinizadora

A prole das vespas *Idarnes* grupo *flavicollis* se desenvolveu normalmente na ausência de polinizadoras (combinação 1), ao passo que a prole das fêmeas *Idarnes* grupo *carne* não se desenvolveu em sicônios não polinizados de nenhuma das árvores (combinação 2) (Tabela 5). Nessa manipulação, todos os sicônios experimentais sofreram aborto e não apresentaram galhas, indicando que as vespas *Idarnes* grupo *carne* não sejam capazes de induzi-las e que apresentem hábito inquilino ou parasitóide.

Apesar do desenvolvimento na ausência das polinizadoras, as vespas do grupo *flavicollis* não foram capazes de emergir naturalmente dos sicônios. Os machos dessas vespas não apresentam o comportamento de abertura do orifício de saída no sicônio. Os sicônios foram cortados ao meio para liberação das vespas, que já haviam emergido de suas galhas. Esses resultados sugerem que as vespas do grupo *flavicollis* dependem da abertura feita pelos machos da espécie polinizadora para abandonar o sicônio.

Tabela 5: Número de vespas (média \pm DP) desenvolvidas nos sicônios e outras características dos sicônios experimentais. Pol = polinizadora (*Pegoscapus tonduzi*), N = número de sicônios ovipostos e/ou polinizados; entre parênteses o número de sicônios com prole de *Idarnes*. Somente os figos infestados foram considerados para o cálculo do número médio de cada espécie de vespa.

Combinação	Pol + <i>flavicollis</i>	<i>flavicollis</i> + pol	<i>flavicollis</i>	Pol + <i>carne</i>	<i>carne</i>	<i>flavicollis</i> + <i>carne</i>
N	19 (0)	33 (13)	29 (29)	27 (2)	52 (0)	24 (24)
<i>Pegoscapus tonduzi</i>	127,5 \pm 36	67,3 \pm 63,5	0	150,7 \pm 50,8	0	0
<i>Idarnes</i> grupo <i>flavicollis</i>	0	32,3 \pm 26,6	74,8 \pm 34,6	0	0	66,1 \pm 47
<i>Idarnes</i> grupo <i>carne</i>	0	0	0	3 \pm 1,4	0	0
% Sicônios com prole de <i>Idarnes</i>	0	39	41	7	0	33
% Sicônios abortados	12	32	59	11	100	67

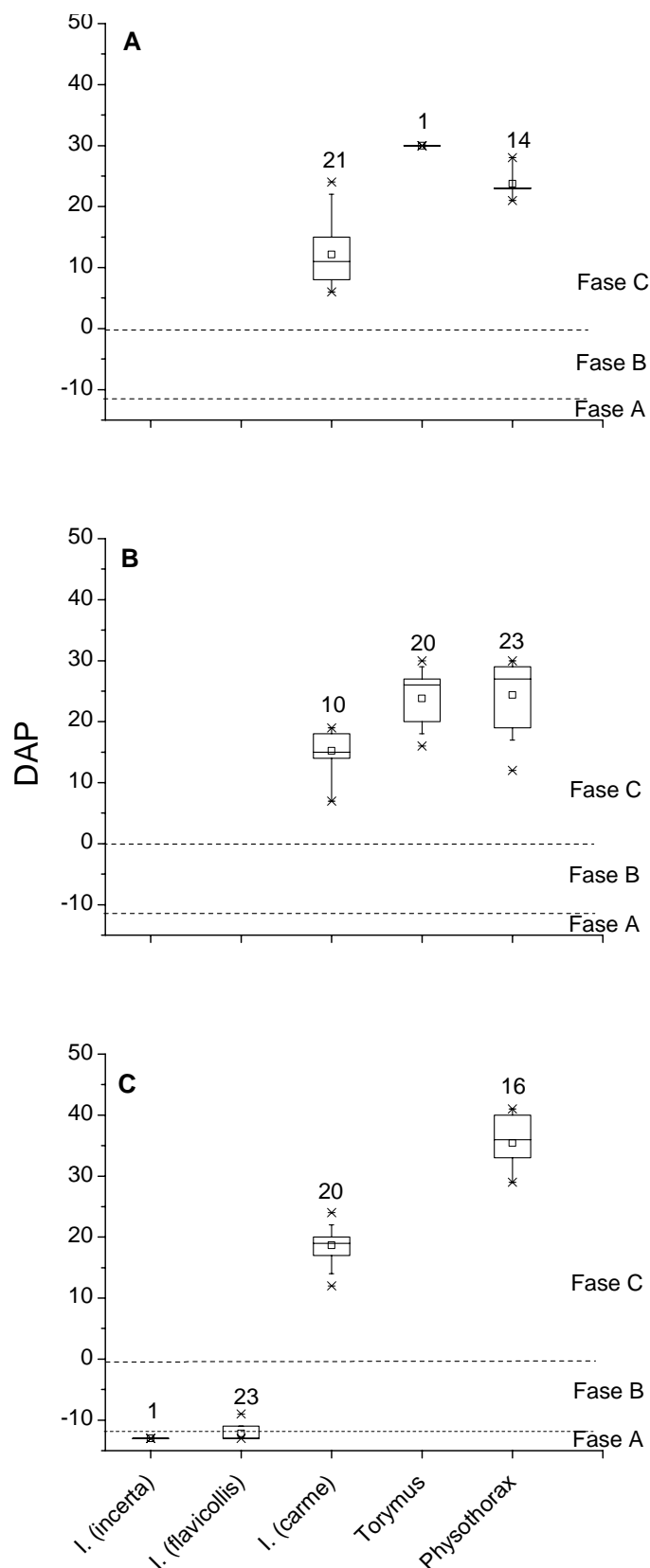


Figura 5: Sequência de colonização de sicônios experimentais por vespas de figo em *F. citrifolia* estudadas em três safras em setembro de 2005 (A), outubro de 2005 (B) e junho de 2007 (C). As caixas delimitam 50% das observações, os traços centrais representam medianas e os quadrados (■) representam médias. Barras verticais representam os 5° e 95° percentis. (x) indicam a amplitude total dos dados. Os números acima de cada caixa representam o número de vespas observadas.

Recursos utilizados por *Idarnes* grupos *flavicollis* e *carne*

Vespas *flavicollis* não se desenvolveram em sicônios previamente polinizados (combinação 3), que apresentaram somente prole da espécie polinizadora. Quando a polinização dos sicônios foi feita após a exposição a fêmeas *flavicollis* (combinação 4), a prole dessas últimas se desenvolveu assim como a prole de polinizadoras. No entanto, o número médio da prole de *P. tonduzi* foi significativamente menor ($t_{22,1} = 3,19$; $P = 0,004$) nesses sicônios quando comparados aos sicônios que foram polinizados antes da exposição a *flavicollis* (combinação 3) (Tabela 5), possivelmente devido à competição por sítios de oviposição entre as duas vespas.

As fêmeas de *flavicollis* provenientes dos sicônios não polinizados (combinação 1) foram significativamente maiores que as vespas desenvolvidas nos sicônios polinizados (combinação 3) para todas as estruturas corporais medidas (Tabela 6), indicando que a fertilização das flores não resulta em recurso alimentar de melhor qualidade para essas vespas.

Tabela 6: Comprimento (média \pm desvio padrão) de estruturas corporais de fêmeas do grupo *flavicollis* provenientes de sicônios não polinizados (combinação 1) e polinizados (combinação 3) e valores para o teste *t*. n = número de vespas medidas.

Estruturas (mm)	Polinizado n = 63	Não polinizado n = 71	<i>t</i>	<i>g.l.</i>	<i>P</i>
Mesossoma	0,71 \pm 0,04	0,75 \pm 0,06	4,28	126,2	$< 10^{-4}$
Ovipositor	3,55 \pm 0,23	3,64 \pm 0,2	2,51	125,4	0,013
Tíbia	0,34 \pm 0,03	0,37 \pm 0,03	5,55	128	$< 10^{-6}$

A prole de vespas *Idarnes* grupo *carne*, por sua vez, se desenvolveu em sicônios polinizados (combinação 5), mas não em sicônios não polinizados e nem em sicônios com *Idarnes* grupo *flavicollis* (combinações 2 e 6, respectivamente). Todos os sicônios expostos somente a fêmeas *carne* (n = 52) sofreram aborto e, na combinação 6, os sicônios apresentaram somente prole de *flavicollis* (Tabela 5).

As fêmeas de *Idarnes* grupo *flavicollis* colonizaram preferencialmente os sicônios não polinizados. Todos os sicônios não polinizados foram colonizados por essas vespas, apresentando galhas. No entanto, devido ao aborto mais intenso nesses sicônios, apenas um completou o desenvolvimento, apresentando prole de vespas *flavicollis*. Por outro lado, nenhum dos sicônios polinizados apresentou prole dessas vespas, somente da polinizadora *Pegoscapus tonduzi* (Tabela 7).

Tabela 7: Número de vespas (média \pm DP) desenvolvidas nos sicônios e outras características dos sicônios submetidos ao experimento de preferência de vespas *Idarnes* grupo *flavicollis*. N = número de sicônios ovipostos.

Tratamento	Polinizado	Não polinizado
N	7	8
<i>Pegoscapus tonduzi</i>	119,6 \pm 76,3	0
<i>Idarnes</i> grupo <i>flavicollis</i>	0	49
% Sicônios com galhas de <i>Idarnes</i>	0	100
% Sicônios abortados	29	88

Alguns sicônios experimentais sofreram aborto ao longo do desenvolvimento (Tabelas 5 e 7). No entanto, altas taxas de aborto associadas a esse tipo de procedimento experimental também foram relatadas em outras espécies de *Ficus* em outras regiões (Steve Compton e Peng YanQiong, comunicação pessoal). As manipulações que não envolveram polinização (combinações 1, 2, 6 e experimento de preferência de *flavicollis*) apresentaram maiores taxas de aborto dos sicônios (Figura 6 e Tabelas 5 e 7).

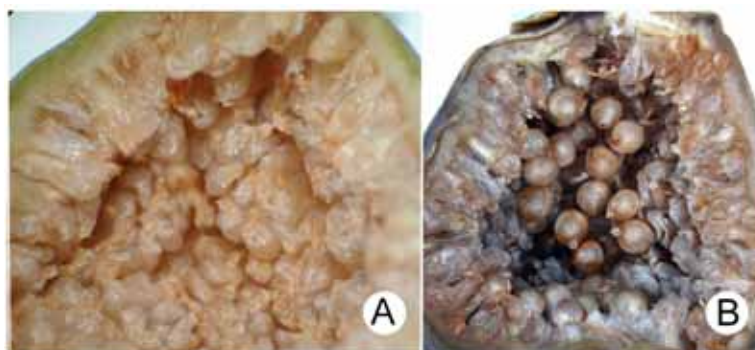


Figura 6: Sicônios não polinizados abortados. A: ausência de galhas. B: Presença de poucas galhas, induzidas por fêmeas *flavicollis*.

Local de deposição dos ovos de *Idarnes* grupos *flavicollis* e *carne*

As dez fêmeas de *Idarnes* grupo *flavicollis* coletadas durante o processo de oviposição colonizavam sicônios nas fases A ou B. Desses figos, dois não haviam sido adentrados por vespas polinizadoras (fundadoras). As fêmeas de *Idarnes* grupo *carne* coletadas durante a oviposição colonizavam figos na fase C.

Externamente ao sicônio, as espécies de *Idarnes* observadas apresentam modo de oviposição semelhante. Os ovipositores se projetam da região ventral do abdômen e se inserem na parede do sicônio, logo abaixo do corpo. Foi observado que, quando o ovipositor estava inserido em uma flor, essa flor estava localizada bem próxima à região onde o ovipositor havia sido inserido, logo abaixo do corpo da vespa, na parede interna do sicônio (Figuras 7A e B). Nos sicônios manipulados e abortados, foi observado que as galhas de *flavicollis* muitas vezes estavam agrupadas (Figura 6B). Essa observação sugere que essas vespas ovipositam em mais de uma flor por cada inserção do ovipositor.

Internamente ao figo, os grupos *flavicollis* e *carne* apresentam modos distintos de oviposição. Em *flavicollis*, o ovipositor era inserido sempre pelo estigma da flor (Figura 7C), assim como ocorre com as polinizadoras, sendo que uma curvatura do ovipositor de aproximadamente 120° sempre era observada e o ovipositor percorria todo o estilete até

alcançar o ovário. Nas espécies do grupo *carne*, os ovipositores sempre estavam inseridos pela parede da galha (note que nesta fase as flores pistiladas já se desenvolveram em galhas, Figura 7D).

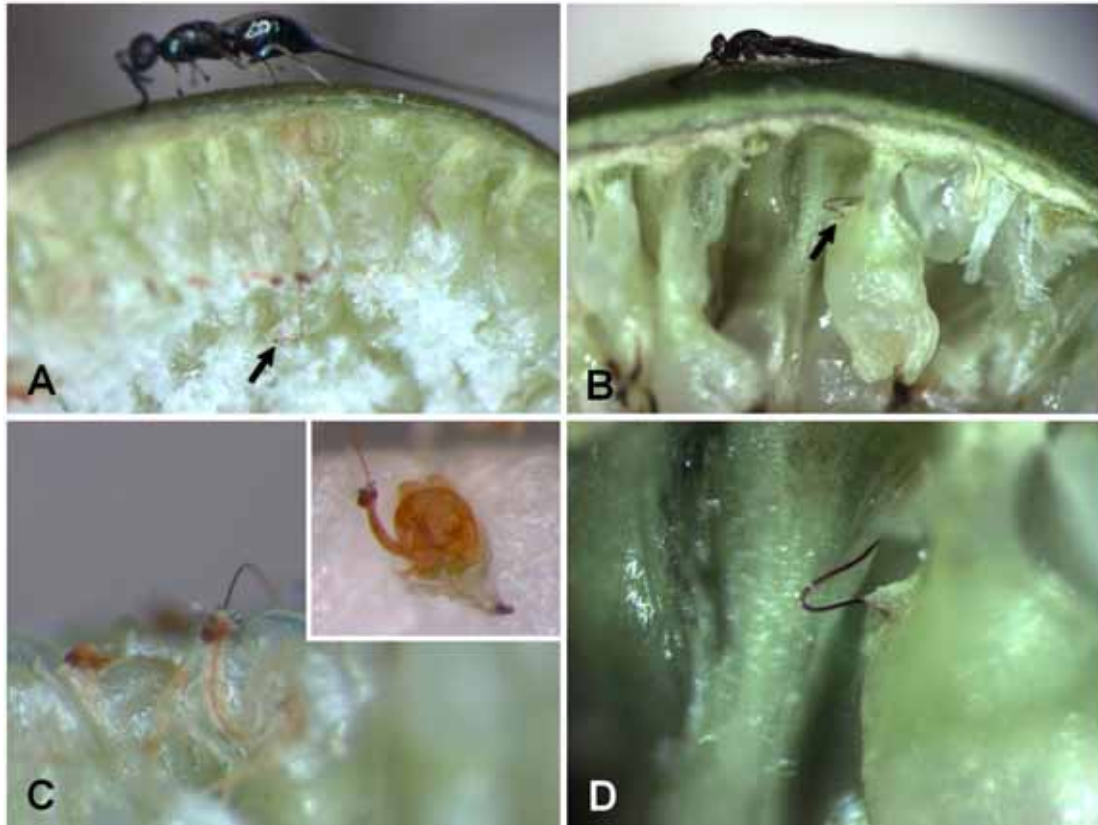


Figura 7: Modo de oviposição em espécies de *Idarnes* associadas a *Ficus citrifolia*. A e C: oviposição de uma fêmea do grupo *flavicollis* (sicônio em fase feminina), note o ovipositor inserido pelo estigma da flor em C (seta). B e D: oviposição de uma fêmea da espécie 1, grupo *carne* (sicônio em fase interfloral), note o ovipositor inserido pela parede da galha em D (seta).

Foi possível observar três ovos de *flavicollis* e um ovo de *carne* nos ovários das flores analisadas. Os ovos de *Idarnes* medem aproximadamente 100 μm em comprimento, tamanho semelhante ao dos ovos da polinizadora *Pegoscapus tonduzi* (S. G. Jansen, dados não publicados).

A análise dos cortes histológicos nos permitiu observar que as fêmeas *Idarnes* grupo *flavicollis* depositam seus ovos entre o tegumento interno e o nucelo dos óvulos das flores pistiladas (Figuras 8 e 9A-C). O ovipositor dessas vespas é inserido pelo estigma e percorre o estilete da flor até alcançar o ovário, danificando o tecido do estilete e dos tegumentos. No entanto, não foi observado sinal de lise celular no local de deposição do ovo, apenas afastamento dos tecidos (Figura 9). Algumas das flores ovipositadas por fêmeas *Idarnes* grupo *flavicollis* estavam fertilizadas, apresentando zigoto e núcleo endospermico primário (Figura 9D), mas outras não apresentaram sinal de fertilização.

O ovo de *Idarnes* grupo *carne*, por sua vez, é depositado no interior do saco embrionário, onde está localizada a larva da polinizadora (Figuras 10A-F), sugerindo mais uma vez que o grupo *carne* seja inquilino dessa espécie, depositando seus ovos em ovários já galhados pela polinizadora.

Os ovários galhados (contendo ovo de vespas) apresentaram óvulos com as células do nucelo hipertrofiadas e tecido caracterizado por atividade meristemática, o que fica mais evidente na fase C (Figura 10G-I), sendo que essas características provavelmente estão intimamente relacionadas à transformação das flores pistiladas em galhas.

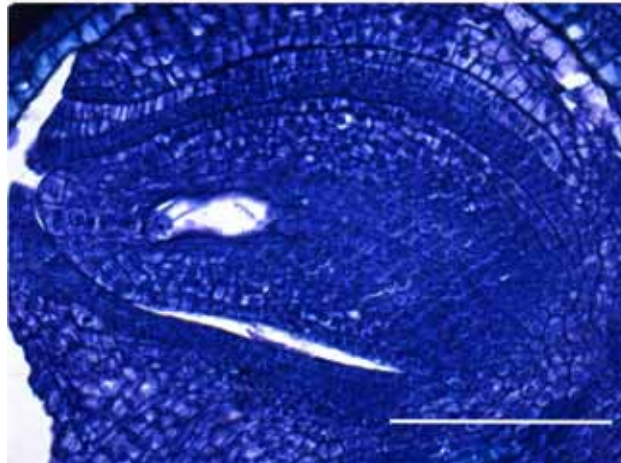
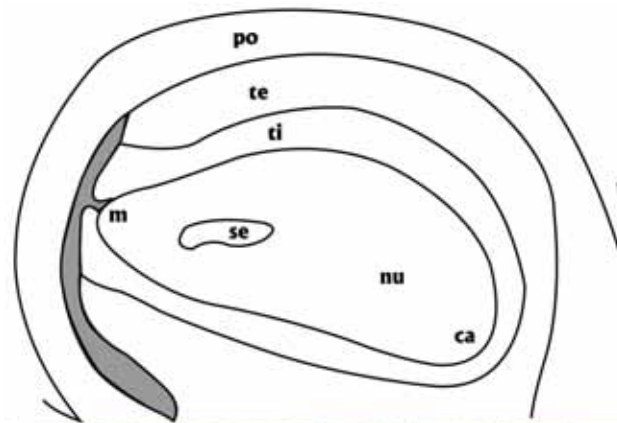


Figura 8: Estrutura do ovário de flor fertilizada de *Ficus citrifolia*. ca = calaza, m = micrópila, nu = nucelo, po = parede do ovário, se = saco embrionário, te = tegumento externo, ti = tegumento interno. Escala = 100 μ m.

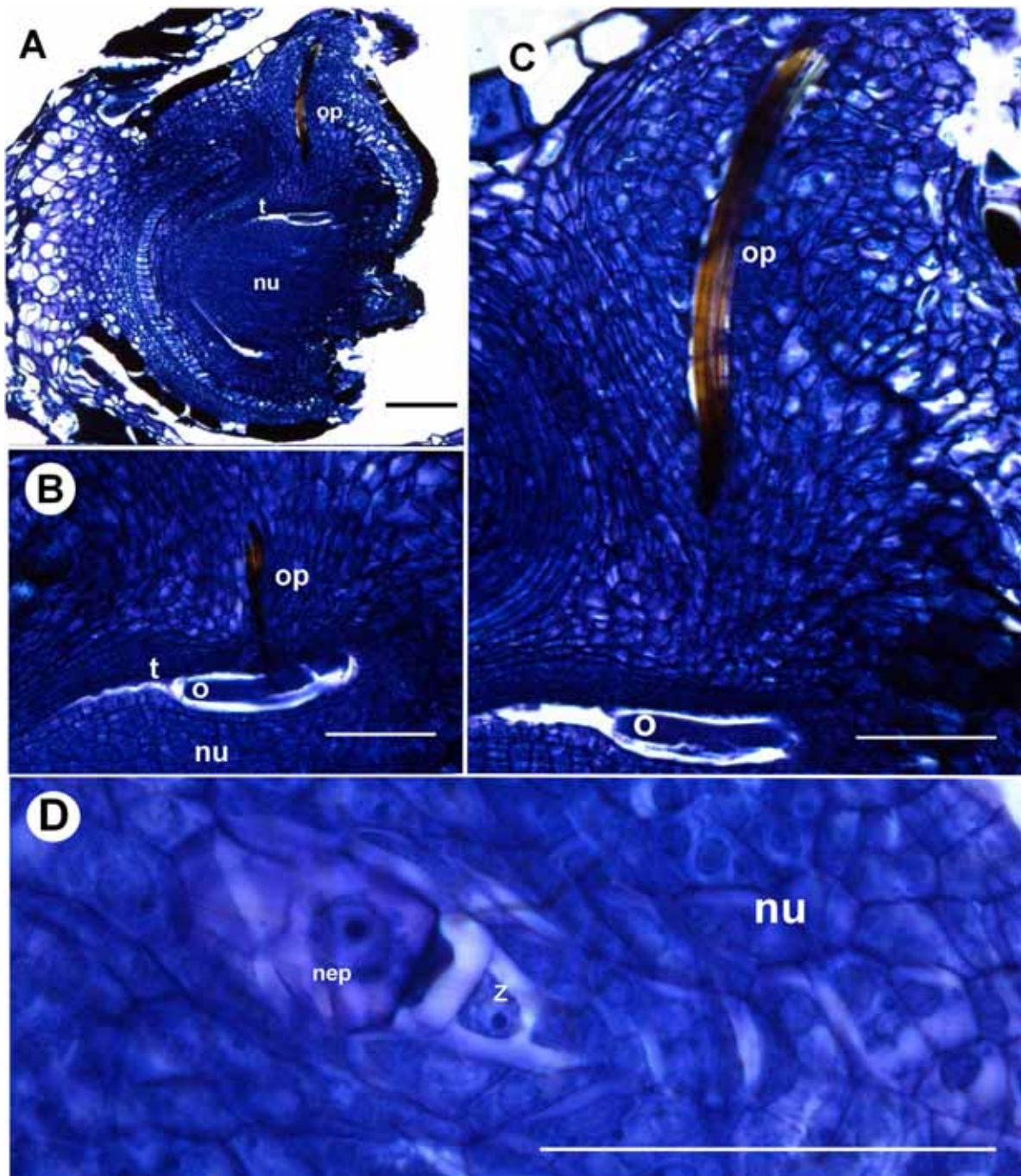


Figura 9: Fotomicrografias de cortes longitudinais de flores de sicônios de *Ficus citrifolia* na fase feminina. A: Flor não fertilizada e ovipositada por fêmea de *Idarnes* grupo *flavicollis*, evidenciando parte do ovipositor (op) e o ovo (o), depositado entre o nucelo (nu) e os tegumentos (t). Detalhe em B e C, D: Nucelo de flor ovipositada por *Idarnes* grupo *flavicollis* e fertilizada, evidenciando o zigoto (z) e o núcleo endospermico primário (nep). Escalas: A e B = 100 μ m; C e D = 50 μ m.

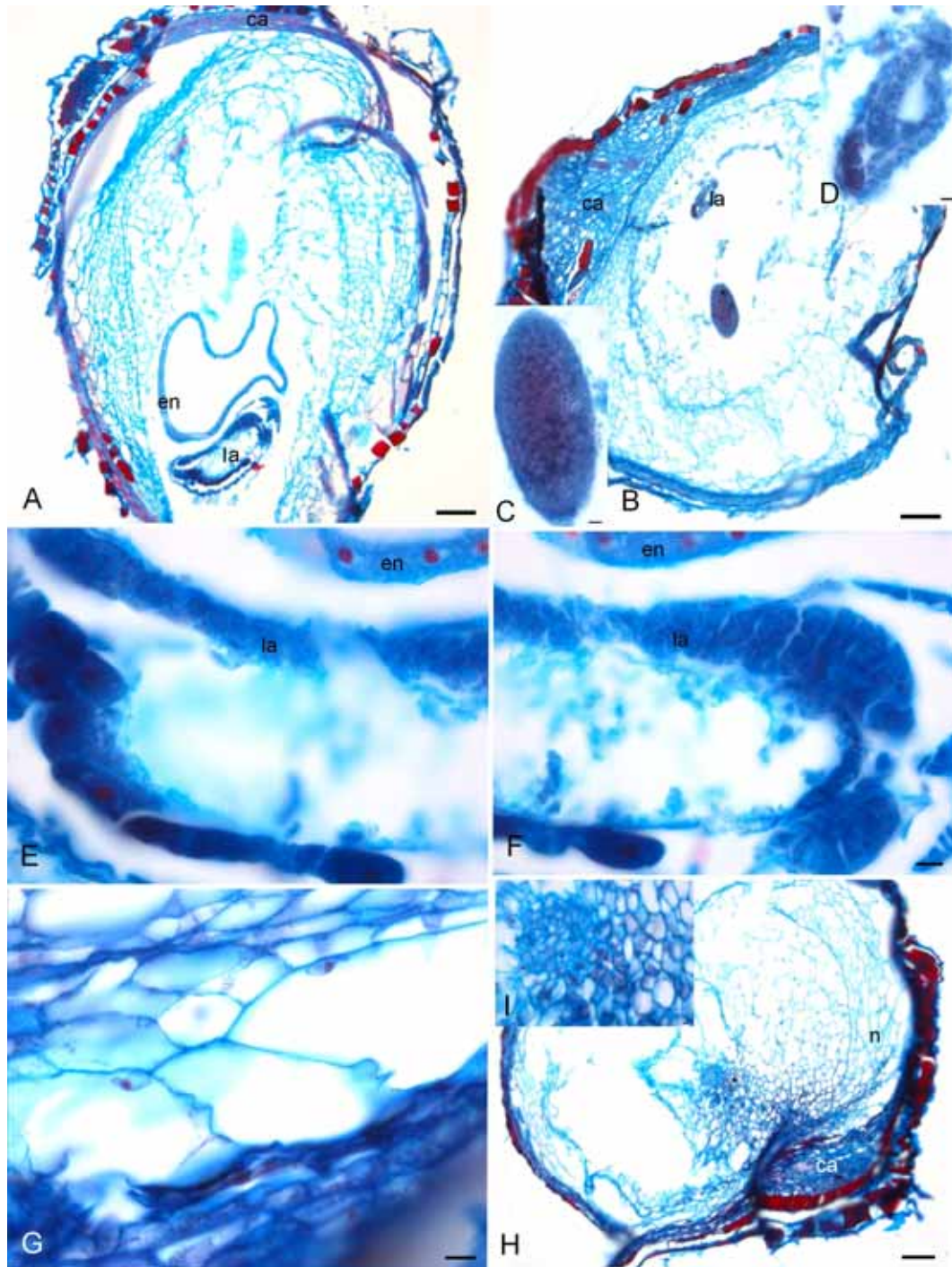


Figura 10: Fotomicrografias de cortes longitudinais de flores de sicônios de *Ficus citrifolia* na fase interfloral. A- Ovário de flor fertilizada e ovipositada por *Pegoscapus tonduzi*. B-Ovário de flor fertilizada e ovipositada por *Pegoscapus tonduzi* e por *Idarnes* grupo *carne* sp.1. C- Ovo de *Idarnes* grupo *carne* (*). D- Larva (la) de *Pegoscapus tonduzi*. E e F – Larva de *Pegoscapus tonduzi* ao lado do endosperma (en) não celularizado. G- Células hipertrofiadas do nucelo (n) na região da calaza (ca). H- Ovário de flor fertilizada e ovipositada por *Pegoscapus tonduzi* e *Idarnes* grupo *carne* apresentando células com características meristemáticas, em detalhe em I.

Escalas: A, B e H = 15 μ m; C, D, E, F, G e I = 6 μ m.

4. Discussão

Os resultados mostram que mesmo em espécies filogeneticamente bastante próximas, pertencentes aos grupos *flavicollis* e *carne* do gênero *Idarnes* (Marussich & Machado 2007), ocorre variação na biologia e estratégia de exploração de recursos. As especulações de que as espécies do gênero *Idarnes* fossem galhadoras, presentes em trabalhos anteriores (West & Herre 1994, West *et al.* 1996 e Marussich & Machado 2007), não foram corroboradas pelos resultados aqui apresentados, que indicam que as espécies do grupo *carne* não apresentam hábito galhador.

Foi observado que os sicônios de *Ficus citrifolia* são colonizados no início do desenvolvimento por vespas galhadoras, mais tarde por espécies possivelmente inquilinas e no final da fase interfloral por espécies de gêneros supostamente parasitóides (Figura 11).

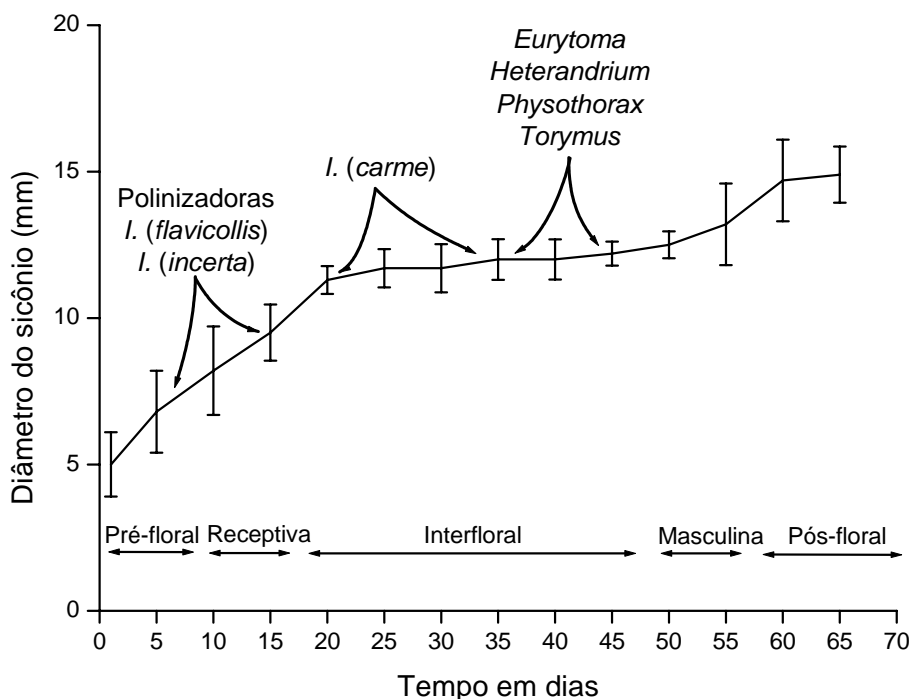


Figura 11: Sequência de colonização por vespas de figo em *Ficus citrifolia*. Barras representam desvios padrão da média.

Os resultados elucidaram que vespas do grupo *flavicollis* são galhadoras e independem da polinização para o desenvolvimento larval de sua prole. Fêmeas *flavicollis* colonizam preferencialmente sicônios não polinizados, evitando, assim, competição por sítios de oviposição (West & Herre 1994, Pereira 1998). Nessa situação, as vespas do grupo *flavicollis* apresentaram maior tamanho corporal devido, provavelmente, à menor competição, uma vez que a fertilização das flores parece não alterar a qualidade nutricional dos tecidos vegetais consumido pelas larvas, conforme Jousselin *et al.* (2003) observaram para algumas espécies de polinizadoras.

Por outro lado, o sucesso reprodutivo das vespas do grupo *flavicollis* é dependente das polinizadoras, visto que seus machos são incapazes de abrir o orifício de saída, necessitando dos machos da espécie polinizadora para fazê-lo. Além disso, os resultados sugerem que sicônios não polinizados tenham maior chance de sofrer aborto, possivelmente pela menor alocação de recursos. Essa aparente dependência cria uma retroalimentação negativa, em que a ausência da polinizadora levaria também à ausência de prole de *flavicollis*, o que promove a coexistência das duas vespas no sistema (Weiblen *et al.* 1995, Yu 2001).

A oviposição por vespas *flavicollis* não interfere na colonização posterior por vespas polinizadoras. As fêmeas *flavicollis* evitam a retaliação pela planta, adotando mecanismo de oviposição semelhante ao das vespas polinizadoras. Ambas inserem seus oviposidores pelo estigma das flores pistiladas, alcançam o ovário através do estilete e depositam seus ovos (que apresentam tamanho semelhante) no ovário, entre o nucelo e o tegumento interno. Assim, qualquer mecanismo que excluísse essas não-polinizadoras excluiria também a polinizadora, o que não seria vantajoso para a planta. Adotando essa estratégia, vespas *flavicollis* garantem a manutenção dos sicônios até a fase receptiva, quando serão polinizados e ovipositados pelas polinizadoras.

A estratégia de *Idarnes* grupo *flavicollis* de “imitar” a polinizadora restringe a janela temporal para a colonização dos sicônios. Os sicônios são ovipositados antes da polinização, mas provavelmente não antes do amadurecimento e da receptividade das flores pistiladas, já que isso, potencialmente, possibilitaria a seleção de mecanismos de retaliação pela planta. Tal fato sugere que a atratividade do sicônio às polinizadoras pode ser desvinculada e posterior ao início do período receptivo das flores pistiladas. Dessa forma, vespas *flavicollis* seriam atraídas aos sicônios por substâncias voláteis emitidas antes da atratividade às polinizadoras (Profitt *et al.* 2007), mas quando as flores pistiladas já estivessem maduras.

Os resultados, por outro lado, sugerem fortemente que vespas *Idarnes* grupo *carne* sejam inquilinas específicas da polinizadora, o que contraria as proposições de que fossem galhadoras (West & Herre 1994, West *et al.* 1996 e Marussich & Machado 2007). Essas vespas depositam seus ovos diretamente dentro do saco embrionário de flores já galhadas, onde se localiza a larva da polinizadora *Pegoscapus tonduzi*. O período de colonização dos sicônios por fêmeas *carne* (Figura 11) e sua estratégia de oviposição estão intimamente relacionados ao desenvolvimento da larva de *P. tonduzi*.

As fêmeas polinizadoras depositam seus ovos entre o nucelo e o tegumento interno do ovário das flores (S. G. Jansen, dados não publicados, também documentado para outras espécies por Verkerke (1987 e 1989)). Porém, por volta do 15º dia após a oviposição, a larva de *P. tonduzi* migra para o interior do saco embrionário, próximo à região micropilar (S. G. Jansen, dados não publicados), onde permanece enquanto consome o endosperma formado após a fertilização da flor. No caso de infestação por *Idarnes* grupo *carne*, o endosperma provavelmente será consumido pela larva dessa vespa, sendo a larva da polinizadora eliminada.

O inquilinismo é a biologia mais provável para vespas *Idarnes* grupo *carne*. Elas colonizam os sicônios enquanto as larvas das polinizadoras estão no início do

desenvolvimento (Figura 11), tornando pouco provável a estratégia de parasitoidismo. Além disso, Pereira *et al.* (2007) demonstraram que essas vespas são capazes de utilizar sementes jovens para desenvolver sua prole em sicônios muito infestados, sugerindo que sejam fitófagas e não carnívoras.

O fato de *flavicollis* “imitar” o mecanismo de oviposição das polinizadoras e o de *carne* depositar seus ovos dentro do saco embrionário, juntamente com a larva da polinizadora, sobrepujam mecanismos de retaliação e filtragem pela planta, permitindo a manutenção dessas parasitas no sistema (Yu 2001).

Informações sobre a biologia de vespas de figo, como as aqui apresentadas, podem auxiliar o entendimento da origem e evolução dessas interações ecológicas complexas. Assim, as conclusões desse estudo contribuirão de forma relevante para o avanço do conhecimento no sistema *Ficus* – vespas de figo e abrirão portas para outros estudos sobre o papel e importância de vespas não-polinizadoras.

5. Considerações finais

A diversificação de biológicas entre espécies filogeneticamente próximas de vespas de figo encontrada aqui também foi demonstrada para o gênero *Platyneura*, associado a figueiras do sub-gênero *Sycomorus*, no qual são encontradas espécies galhadoras, inquilinas e parasitóides (Finn Kjellberg, comunicação pessoal). É possível que essa diversificação seja mais comum do que o documentado atualmente, sendo que mais estudos nesse campo são necessários.

As diferentes biológicas de vespas não-polinizadoras parecem não estar relacionadas ao local de deposição de seus ovos nas flores. Estudos mostram que a espécie galhadora *Sycophaga sycomori* L deposita seus ovos no interior do saco embrionário em *Ficus sycomorus* (Galil *et al.* 1970) e que a espécie *Philotrypesis caricae* L., inquilina de *Blastophaga psenes* L. em *Ficus carica* L., deposita seus ovos entre o nucelo e o tegumento interno (Joseph 1958), dados que diferem dos resultados aqui obtidos. Claramente, mais estudos são necessários nesse ramo, expandindo o número de espécies estudadas, possibilitando um maior poder de inferência e interpretações sobre as relações de vespas não-polinizadoras e o mutualismo.

Dessa forma, ao compreendermos melhor as relações entre as espécies envolvidas na interação, poderemos inferir quais pressões seletivas moldam essas interações e como a complexa diversidade observada evolui e se mantém.

6. Referências bibliográficas

- Abdurahiman, U.C. & Joseph, K.J. 1978. Cleptoparasitism of the fig wasps (Torymidae: Chalcidoidea) in *Ficus hispida* L. *Entomon* **3**: 181-186.
- Berg, C.C. 1989. Classification and distribution of *Ficus*. *Experientia* **45**: 605-611.
- Begon, M.; Townsend, C.R. & Harper, J.L. 2006. *Ecology: from Individuals to Ecosystems*. Blackwell Science, Oxford.
- Bouček, Z. 1993. The genera of chalcidoid wasps from *Ficus* fruit in the New World. *Journal of Natural History* **27**: 173-217.
- Bronstein, J.L. 1992. Seed predator as mutualists: Ecology and evolution of the fig pollinator interaction, p. 1-43. In: Bernays, E. (ed.), *Insect-Plant Interactions*. CRC Press, Boca Raton.
- Carauta, J.P.P. 1989. *Ficus* (Moraceae) no Brasil: conservação e taxonomia. *Albertoa* **2**: 1-365.
- Elias, L.G.; Menezes Jr., A.O. & Pereira, R.A.S. Colonization sequence of non-pollinating fig wasps associated with *Ficus citrifolia* in Brazil. *Symbiosis. No prelo*.
- Galil, J. & Eisikowitch, D. 1968. On the pollination ecology of *Ficus Sycomorus* in east Africa. *Ecology* **49**: 259-269.
- Galil, J., Dulberger, R. & Rosen, D. 1970. The effects of *Sycophaga sycomori* L. on the structure and development of the syconia in *Ficus sycomorus* L. *New Phytologist* **69**: 103-111.
- Galil, J. & Eisikowitch, D. 1971. Studies on a mutualistic symbiosis between syconia and sycophilous wasps in monoecious figs. *New Phytologist* **70**: 773-787.
- Gerlach, D. 1969. *Botanische mikrotechnik*. Georg. Thieme Verlag, Stuttgart.
- Gordh, G. 1975. The comparative external morphology and systematics of the neotropical parasitic fig wasp genus *Idarnes* (Hymenoptera: Torymidae). *University of Kansas Science Bulletin* **50**: 389-455.
- Grisson-Pigé, L.; Bessière, J.M. & Hossaert-McKey, M. 2002. Specific attraction of fig-pollinating wasps: role of volatile compounds released by tropical figs. *Journal of Chemical Ecology* **28**(2): 283-295.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company Inc, New York.
- Joseph, K. 1958. Recherches sur les chalcidiens, *Blastophaga psenes* (L.) et *Philotrypesis caricae* (L.), du figuier (*Ficus carica* L.). *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie et Biologie Animale* **11^e série**:197-260.

- Jousselin, E.; Hossaert-McKey, M.; Herre, E.A. & Kjellberg, F. 2003. Why do fig wasps actively pollinate monoecious figs? *Oecologia* **134**: 381-387.
- Kerdelhué, C. & Rasplus, J.Y. 1996. Non-pollinating Afrotropical fig wasps affect the fig-pollinator mutualism in *Ficus* within the subgenus *Sycomorus*. *Oikos* **75**: 3-14.
- Kerdelhué, C.; Rossi, J.P.; Rasplus, J.Y. 2000. Comparative community ecology studies on Old World figs and fig wasps. *Ecology* **81** (10): 2832-2849.
- Kjellberg, F.; Jousselin, E.; Hossaert-McKey, M.; Rasplus, J.Y. 2005. Biology, Ecology and Evolution of Fig-pollinating Wasps (Chalcidoidea, Agaonidae) p. 539-571. In: Raman, A.; Schaefer, C.W. & Withers, T.M. (eds.), *Biology, Ecology and Evolution of Gall-Inducing Arthropods*. Science publishers, Inc., New Hampshire.
- Marussich, W.A. & Machado, C.A. 2007. Host-specificity and coevolution among pollinating and nonpollinating New World fig wasps. *Molecular Ecology* **16**: 1925-1946.
- Pereira, R.A.S. 1998. *Relação do desenvolvimento de vespas de figo (Hymenoptera: Chalcidoidea) com aspectos reprodutivos de Ficus eximia Schott (Moraceae)*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas.
- Pereira, R.A.S.; Semir, J. & Menezes Jr, A.O. 2000. Pollination and other biotic interactions in figs of *Ficus eximia* Schott (Moraceae). *Revista Brasileira de Botânica* **23**: 217-224.
- Pereira, R.A.S.; Cerezini, M.T.; Gobbo, S.E. & Varanda E.M. 2006. Comunidade de figueiras em uma área urbanizada em Ribeirão Preto, estado de São Paulo, Brasil. Trabalho apresentado no IX Congresso Latinoamericano de Botânica, República Dominicana.
- Pereira, R.A.S., Teixeira, S.P. & Kjellberg, F. 2007. An inquiline fig wasp using seeds as a resource for small male production: a potential first step for the evolution of new feeding habits? *Biological Journal of the Linnean Society* **92** : 9-17.
- Profitt, M.; Schatz, B.; Borges, R.M. & Hossaert-McKey, M. 2007. Chemical mediation and niche partitioning in nonpollinating fig-wasp communities. *Journal of Animal Ecology* **76**: 296-303.
- Rasplus, J-Y.; Kerdelhué, C.; Le Clainche, I. & Mondor, G. 1998. Molecular Phylogeny of Fig Wasps Agaonidae are not Monophyletic. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences Series III, Sciences de la vie / Life Sciences* **321**: 517-527.
- Rønsted, N.; Weiblen, G.D.; Clement, W.L.; Zerega, N.J.C. & Savolainen, V. Reconstructing the phylogeny of figs (*Ficus*, Moraceae) to reveal the history of the fig pollination mutualism. *Symbiosis. No prelo*.
- Shanahan, M.; So, S.; Compton, S.G. & Corlett, R. 2001. Fig-eating by vertebrate frugivores: a global review. *Biological reviews* **76**: 529-272.

- Verkerke, W. 1987. Syconial anatomy of *Ficus asperifolia* (Moraceae), a gynodioecious tropical fig. *Proceedings C, Botany* **90**: 461-492.
- Verkerke, W. 1989. Structure and function of the fig. *Experientia* **45**: 612-622.
- Weiblen, G.D. 2002. How to be a fig wasp. *Annual Review of Entomology* **47**: 299-330.
- Weiblen, G.D.; Flick B. & Spencer H. 1995. Seed set and wasp predation in dioecious *Ficus variegata* from an Australian wet tropical forest. *Biotropica* **27**: 391–394.
- West, S.A. & Herre, E.A. 1994. The ecology of the New World fig-parasitizing wasps *Idarnes* and implications for the evolution of the fig-pollinator mutualism. *Proceedings of the Royal Society of London B, Biological Sciences* **258**: 67-72.
- West, S.A.; Herre, E.A.; Windsor, D.M. & Green, P.R.S. 1996. The ecology and evolution of the New World non-pollinating fig wasp communities. *Journal of Biogeography* **23**: 447-458.
- Yu, D.W. 2001. Parasites of mutualisms. *Biological Journal of the Linnean Society* **72**: 529-546.
- Zar, J. H. 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River.
- Zhen, W.Q; Huang, D.W.; Xiao, J.H.; Yang, D.R.; Zhu, C.D & Xiao, H. 2005. Ovipositor length of three *Apocrypta* species: effect on oviposition behavior and correlation with syconial thickness. *Phytoparasitica* **33**: 113-120.