



Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Unidade Universitária de Dourados
Programa de Pós- Graduação em Recursos Naturais

PERFIL QUÍMICO DA CUTÍCULA E DO VENENO EM VESPAS EUSSOCIAIS: FUNÇÃO E VARIAÇÃO DE SUA COMPOSIÇÃO

Denise Sguarizi Antonio

Dourados – MS

Fevereiro/2015





PERFIL QUÍMICO DA CUTÍCULA E DO VENENO EM VESPAS EUSSOCIAIS: FUNÇÃO E VARIAÇÃO DE SUA COMPOSIÇÃO

Denise Sguarizi Antonio

Orientador: William Fernando Antonialli Junior

Coorientador: Sandro Marcio Lima

“Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Recursos Naturais, área de concentração em Recursos Naturais, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais”.

Dourados – MS

Fevereiro/2015

FICHA CATALOGRÁFICA

S535p Sguarizi-Antonio, Denise

Perfil químico da cutícula e do veneno em vespas eussociais:

função e variação de sua composição/Denise Sguarizi
Antonio. Dourados,MS: UEMS, 2015.

80p. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Recursos
Naturais -Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,
2015.

Orientador: Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior.

1.Insetos sociais. 2. Hidrocarbonetos. 3.Veneno. I.Título.

CDD 23.ed. 595.7

EPÍGRAFE

“A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las.

(Aristóteles)

Somos o que fazemos repetidamente.

Por isso o mérito não está na ação e sim no hábito.

(Aristóteles)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha querida família (meus pais, irmãos, sobrinhos e cunhadas) pessoas estas que nunca mediram esforços para que meus objetivos fossem alcançados, pelo incentivo e apoio, sempre acreditando em minha capacidade de vencer.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul e ao PGRN (Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais) por permitir meu ingresso em um curso de pós-graduação.

Ao meu orientador Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior, que com toda paciência do mundo aguentou cada “TPM, crise de choro e desespero”, que ocorreram inúmeras vezes ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Pela dedicação em ensinar, pelas cobranças (se não fossem elas com certeza não estaria aqui), pela confiança e disponibilidade até mesmo nos fins de semana. E por fim pelos inúmeros conselhos, que com toda a certeza levarei para a vida toda, **MUITO OBRIGADA!!**

Aos meus pais Domingos e Soloni, que mesmo não estando por perto fisicamente, me deram todo o apoio necessário para que me sentisse confortável para conseguir realizar as tarefas do mestrado, em especial à minha mãe que mesmo com a saudade apertada, a cada telefonema me acalmava com sua serenidade e me inspirando confiança sempre. Obrigada por acreditarem em meus sonhos. **RAZÃO DA MINHA VIDA!!**

Aos meus irmãos (Marcos e Kleber) minhas cunhadas (Ilma e Silvia) aos sobrinhos (Nathi, Mateus, Gustavo e Artur), que ao perceber um sinal de desânimo ou estresse logo apareciam com uma piada para distrair e esfriar os nervos, ou com frases simples como: Calma, você vai conseguir!! Que fizeram toda a diferença nestes dois anos. **SEM VOCÊS NÃO SOU NINGUÉM!!**

Aos meus entes queridos que não estão mais neste plano, Ricardo e Alexandre, mesmo não tendo participado desta etapa fisicamente, a breve permanência neste mundo me deixou

algumas lições, a paciência do Ricardo e a inteligência nata do Alexandre, virtudes que tento praticar todos os dias. ANJOS!!

Ao meu namorado Fernando que foi muito mais que um companheiro neste trabalho, ficando até altas horas na faculdade somente para não me deixar sozinha nos momentos de coleta de dados, entendendo minha ausência nos momentos necessários com muita paciência, aguentando as lágrimas nos momentos de desespero e com a frase: Sossega menina que vai dar tudo certo!! Me acalmou inúmeras vezes. OBRIGADA POR TUDO!!

À grande amiga Viviana de Oliveira Torres, que não mediu esforços para me auxiliar em tudo que fosse preciso, desde coleta de dados a aulas a fim de me fazer entender cada detalhe, quando os neurônios loiros falhavam (e olha que não foram poucas vezes), me faltam palavras para agradecer sua ajuda e como sempre digo: Quando crescer quero ter seu cérebro!! Obrigada também pelos momentos de gargalhadas, pela amizade, conselhos e tantas outras coisas!! MUITO OBRIGADA!!

Às irmãzinhas de kitinete Ellen e Kamylla, que caíram do céu para serem minhas companhias na vida em Dourados, sendo compreensivas com minhas faxinas noturnas e ataques noturnos à geladeira em épocas de estresse, obrigada pelas conversas, gargalhadas e ajuda nas decisões ao longo do mestrado. Agradeço também a Eva, companheira desde a graduação, que com suas brincadeiras sempre alegrava meus dias.

À família científica LABECO (Laboratório de Ecologia Comportamental) pelas inúmeras reuniões de descontração ao longo destes dois anos (cafés, tererés, bolos, churrascos e conversas) momentos que já se tornaram tradição em nosso grupo.

Ao GEOF (Grupo de Espectroscopia Óptica e Fototérmica) pelo fornecimento de todo aparato experimental, em especial ao Prof. Dr. Sandro Márcio Lima pela dedicação e paciência nos diálogos, obrigada por se “tornar um pouco biólogo” a fim de contribuir ao máximo com nossos trabalhos. MUITO OBRIGADA!!

Ao colega Romario pela ajuda nas coletas. Agradeço também ao Sr. Vitor e Sr. Aluizio que sempre nos avisam do aparecimento de colônias de vespas pelas redondezas da universidade.

As meninas da limpeza, que todas as manhãs nos recebem com um sorriso no rosto, fazendo com que o bom humor esteja presente.

À Capes pela concessão da bolsa de estudos.

Por fim, à Deus pelo dom da vida, pela oportunidade de vivenciar estas experiências, conviver com pessoas admiráveis e aprender coisas formidáveis ao longo deste trabalho.

SUMÁRIO

	PÁG
CONSIDERAÇÕES GERAIS- Perfil químico da cutícula e do veneno em vespas eussociais: Função e variação de sua composição	
Resumo.....	01
Abstract.....	02
Considerações Gerais.....	03
Referências Bibliográficas.....	12
Variação do perfil químico cuticular e do veneno de vespas Polistinae (Hymenoptera, Vespidae) por FTIR-PAS	
Resumo.....	26
Abstract.....	27
Introdução.....	28
Materiais e Métodos.....	32
Resultados e Discussão.....	37
Referências Bibliográficas.....	51
Apêndices.....	60

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Perfil químico da cutícula e do veneno em vespas eussociais: Função e variação de sua composição

RESUMO: Para viver em sociedade, as vespas, assim como os demais insetos sociais precisaram dividir um local comum, denominado de ninho, no qual acontecem todas as interações. Contudo, para que ocorram estas interações foi necessário a evolução de um eficiente sistema de comunicação, no qual há troca de diferentes tipos de sinais, sobretudo os químicos. Neste contexto, destacam-se os hidrocarbonetos cuticulares (HCs) que, além de evitar a dessecação e impedir a entrada de toxinas e patógenos no corpo dos insetos, atuam como feromônios de contato, que são percebidos por um indivíduo quando este entra em contato direto com outro. Portanto, é inegável a importância que o perfil de HCs exerce na organização e manutenção da sociedade dos insetos sociais. Além disso, outro marco importante na evolução destes insetos foi o desenvolvimento de um sistema de captura de presa e defesa da colônia, na forma de compostos químicos denominados de venenos. O veneno é composto basicamente por proteínas e peptídeos, correspondendo a uma mistura complexa de compostos e, apesar de relatos sobre atividades antimicrobianas, inseticidas e anti-inflamatórias do mesmo, o conhecimento sobre sua composição ainda é muito limitado, principalmente devido a dificuldades para obtenção de quantidades suficientes que permitam sua análise. Dessa forma, é de suma importância o aprofundamento nos estudos das moléculas encontradas nos venenos

destes insetos e, conseqüentemente, os avanços fisiológicos, bioquímicos e até farmacológicos que eles podem trazer.

Palavras-Chave: insetos sociais, hidrocarbonetos, veneno.

ABSTRACT: To live in society, wasps, and other social insects had to share a common location, called nest, in which all interactions occur. However, these interactions to occur evolution was needed for an efficient communication system in which there is an exchange of different types of signals, particularly chemicals. In this context, we highlight the cuticular hydrocarbons (HCs) that in addition to avoid drying and keep out toxins and pathogens in the body of insects, serve as contact pheromones, which are perceived by an individual when it comes in direct contact with each other. Therefore, it is undeniable the importance that the HCs profile has on the organization and maintenance of the society of social insects. Also, another important milestone in the evolution of these insects was the development of a prey capture and defense system of the colony, in the form of chemical compounds called poisons. The venom is composed primarily of proteins and peptides, corresponding to a complex mixture of compounds and, despite reports on antimicrobial activities, insecticides and anti-inflammatory of it, the knowledge of its composition is still very limited, mainly because of difficulties in obtaining sufficient quantities to allow their analysis. Thus, it is of utmost importance to deepen the studies of the molecules found in the venoms of these insects and hence the physiological, biochemical and pharmacological advances until they can bring.

Keywords: social insects, hydrocarbons, venom.

Considerações Gerais

As vespas eussociais pertencem à família Vespidae, atualmente constituída por seis subfamílias: Euparagiinae, Masarinae, Eumeninae, Stenogastrinae, Polistinae e Vespinae sendo que, o comportamento eussocial está presente apenas em Stenogastrinae, Polistinae e Vespinae, destacando-se a subfamília Polistinae por sua distribuição cosmopolita e por ser a única subfamília de vespas eussociais que ocorre no Brasil (Carpenter & Marques, 2001).

A eussocialidade surgiu de maneira independente em vespas, abelhas e formigas, com origens múltiplas em vespas e abelhas (Gullan & Cranston, 2007), contudo, existem diferentes hipóteses para explicar essa evolução que ainda hoje gera controvérsias entre os pesquisadores (Hamilton, 1964 a,b; Alexander, 1974). Esses organismos eussociais diferenciam-se dos demais porque apresentam divisão reprodutiva de trabalho, cuidados cooperativos com a prole e sobreposição das gerações adultas (Wilson, 1971; Michener, 1974).

No entanto, para a vida em sociedade esses organismos primeiramente tiveram que dividir um local comum, uma estrutura física denominado ninho (McGlynn, 2012). O comportamento de nidificação, então foi um dos marcos evolutivos neste grupo (Jeanne, 1975). O ninho, além de abrigo promove a coesão dos membros da colônia, fornecendo um local comum no qual os indivíduos interagem uns com os outros.

Neste sentido, esses organismos precisaram desenvolver mecanismos de comunicação para fomentar estas interações na forma de sinais de diferentes origens, como os visuais, acústicos, táteis e, sobretudo, os químicos (Fadl Ali & Morgan, 1990; Richard & Hunt, 2013). A rapidez e eficiência da comunicação química é vantajosa frente às demais, porque é menos custosa (Zahavi, 2008; Richard & Hunt, 2013). Nos insetos sociais essa comunicação química

é mediada principalmente por compostos denominados de semioquímicos, os quais são divididos em feromônios ou aleloquímicos (Vilela & Della Lucia, 2001).

Os feromônios apresentam grande diversidade na sua composição química, função e origem biossintética (Moore, 2008), enquanto os aleloquímicos são subdivididos em cairomônios e alomônios, os quais beneficiam respectivamente, o indivíduo receptor do sinal químico e o inseto que está emitindo (Ali & Morgan, 1990; Richard & Hunt, 2013). Estes feromônios provocam respostas comportamentais imediatas (desencadeadores) ou mudanças fisiológicas mais lentas no organismo receptor (preparadores) (Ali & Morgan, 1990; Vilela & Della Lucia, 2001). Além disso, os sinais químicos utilizados na comunicação podem ser constituídos por compostos voláteis e compostos não voláteis (Billen & Morgan, 1998). Os não voláteis são comumente formados pelos lipídios encontrados na cutícula dos insetos, dentre estes: ésteres, álcoois, ácidos graxos e hidrocarbonetos, sendo os últimos, mais abundantes na cutícula e que têm recebido maior atenção desde a década de 80 devido à sua importância para comunicação em insetos sociais (Lockey, 1988).

Os hidrocarbonetos cuticulares (HCs) apresentam peso molecular relativamente alto e atuam como feromônios de contato porque são percebidos por um inseto somente quando entra em contato direto com outro (Lorenzi et al., 1996). Estes compostos têm como sua principal função evitar dessecação (Lockey, 1988) e impedir a entrada de toxinas e patógenos no corpo dos insetos (Gibbs & Rajpurohit, 2010). Apresentam também um papel secundário como mediadores na comunicação química intraespecífica (Blomquist, 2010).

Os trabalhos com vespas sociais têm demonstrado a importância destes compostos químicos como feromônios de contato (Provost et al., 2008) para a diferenciação de populações

(Dapporto et al., 2004; Bonelli et al., 2015), colônias (Layton et al., 1994; Tannure-Nascimento et al., 2007; Tokoro & Makino, 2011), sexo (Antonialli-Junior et al., 2007; Cotoneschi et al., 2009), *status* reprodutivo (Bonavita-Gougourdan et al., 1991; Sledge et al., 2001; Torres et al., 2014; Soares et al., 2014), castas (Antonialli-Junior et al., 2007; Tokoro & Makino, 2011), fertilidade (Izzo et al., 2010) e idade de fêmeas (Panek et al., 2001; Neves et al., 2012).

Todos esses trabalhos apesar de terem objetivos diferentes demonstram o quanto estes HCs são importantes para a comunicação química intraespecífica nas espécies de vespas sociais. Dessa forma, o perfil químico de um indivíduo pode carregar diferentes informações como a idade, o sexo, o tipo de casta, o estado fisiológico, entre outras (Lorenzi, 1996; Provost et al., 2008) e, além disso, o conjunto de perfis químicos dos membros de uma colônia deve formar uma assinatura química da colônia, também denominada de “odor” característico da colônia. Esse odor colonial, provavelmente é adquirido poucas horas após a emergência de um indivíduo adulto por meio do contato com o ninho e outros membros da colônia (Espelie et al., 1990; Singer & Espelie, 1992, 1997; Singer et al., 1998).

Dessa forma, indivíduos recém-emergidos usam como modelo de comparação no processo de reconhecimento entre companheiros e não-companheiros de ninho esse odor presente nos indivíduos de sua colônia e até mesmo no próprio ninho (D’ettorre & Lenoir, 2010; Sturgis & Gordon, 2012), portanto, estes compostos são extremamente importantes na comunicação intracolonial (Lorenzi et al., 1996).

Além disso, vários estudos têm sugerido que certas glândulas exócrinas dos insetos sociais produzem substâncias que estão envolvidas no mecanismo de reconhecimento (Bagnères & Morgan, 1991; Soroker et al., 1994; Dani et al., 1996). Em formigas, Bagnères & Morgan

(1991) comprovaram que a glândula pos-faringeal contém os mesmos hidrocarbonetos encontrados na cutícula dos adultos. Já em vespas, Dani et al. (1996) comprovaram através de testes comportamentais que as secreções das glândulas de Dufour estão envolvidas no processo de reconhecimento de companheiras de ninho em *Polistes dominula* (Christ). De fato, Mitra & Gadagkar (2014) relatam que na espécie *Ropalidia marginata* (Fabricius) o perfil de hidrocarbonetos cuticulares é similar ao perfil de hidrocarbonetos encontrados nas glândulas de Dufour.

A composição química cuticular pode, atuar ainda como uma ferramenta taxonômica, denominada taxonomia química (Bruschini et al., 2007). Particularmente os hidrocarbonetos cuticulares tem se mostrado importantes como caracteres quimiotaxonômicos em térmitas (Kaib et al., 1991), formigas (Vander Meer, 1986; Martin et al., 2008), abelhas (Blum et al., 2000) e vespas Stenogastrinae (Baracchi et al., 2010). Portanto, o perfil de HCs também pode ser uma ferramenta importante para a distinção interespecífica, uma vez que trabalhos já comprovaram que este perfil é determinado tanto por fatores de origem ambiental quanto hereditários (Gamboa et al., 1986; Arnold et al., 2000).

Os ambientais seriam aqueles adquiridos pelos indivíduos a partir de condições ambientais como o alimento e o material levado para o ninho, enquanto os hereditários estariam relacionados à fatores genéticos e maternais não genéticos (extracromossomais) (Gamboa et al., 1986). Deste modo, o perfil químico cuticular dos indivíduos de colônia sob condições idênticas podem convergir sob influência do meio ambiente comum, ou permanecerem diferenciados quando os endógenos (hereditários) prevalecerem sobre os primeiros (Velthuis, 1970).

Outro componente que tem se mostrado importante para compor a assinatura química da colônia de vespas sociais e mesmo dos próprios membros é o material do ninho (Ross & Gamboa, 1981; Gamboa et al. 1986a,b; Espelie et al., 1990; Espelie & Hermann, 1990; Gamboa, 1996; Singer et al., 1998; Gamboa, 2004). Estes ninhos são construídos com material vegetal, o qual é triturado e misturado com água e provavelmente secreção salivar, resultando num produto semelhante ao papel, sendo por isso popularmente conhecidas como “vespas papel” (Jeanne, 1975; Wenzel, 1998; Carpenter & Marques 2001).

A importância do ninho, neste contexto, fica clara em estudos que descreveram que operárias e gines precisam ter contato com o ninho durante um período de tempo para adquirirem o perfil químico da colônia e, conseqüentemente, poder reconhecer seus companheiros de ninho (Ross & Gamboa, 1981; Gamboa et al., 1986a,b). Este odor é formado por uma mistura de hidrocarbonetos que cada vespa traz em sua cutícula e por compostos que podem ser trocados com o ninho, formando um perfil químico que possibilita ou não a aceitação da vespa na colônia (Singer & Espelie, 1992 e 1997).

Além disso, parasitas de espécies de vespas sociais usam como estratégia química a ausência de odor e/ou mimetismo químico, para enganar os hospedeiros (Bagnères et al., 1996; Turillazzi et al., 2000; Sledge et al., 2001; Lorenzi & Bagnères, 2002; Dapporto et al., 2004; Lorenzi et al., 2004; Lorenzi, 2006). Neste sentido, segundo Panek & Gamboa (2000) rainhas de *Polistes fuscatus* (Fabricius) são capazes de discriminar uma larva estrangeira de sua própria larva, enquanto Cervo et al. (2008) observaram que a rainha parasita de *Polistes sulcifer* (Zimmerman) adquire o perfil de HCs dos hospedeiros após algumas horas de invasão da colônia

(Turillazzi et al., 2000; Sledge et al., 2001; Dapporto et al., 2004). Esta mudança cuticular relativamente rápida facilita a aceitação do parasita na colônia.

Portanto, é inegável a importância que o perfil de HCs exerce na organização e manutenção da vida em sociedade nas vespas sociais, atuando como mediadores de todas as interações em suas colônias.

Outros traços de suma importância para o sucesso das vespas sociais é a capacidade de captura de presas e a capacidade de defesa de suas colônias (Wilson, 1971). Neste sentido, as vespas sociais desenvolveram mecanismos específicos, sobretudo, o uso de compostos químicos denominados de veneno injetado pelo aparelho ferroador (Grimaldi & Engel, 2005). A função primária do veneno, é a captura de presas, mas tornou-se também um eficiente meio de defesa, principalmente nas espécies sociais (Macalintal & Starr, 1996).

A composição do veneno, bem como sua ação varia de acordo com a flutuação ambiental, com a genética e mesmo com a idade (Daltry et al., 1997; Badhe et al., 2006; Abdel-Rahman et al., 2009). Neste contexto há evidências de que a composição do veneno em vespas sociais possa variar de acordo com o conjunto de tarefas que a operária está realizando em determinado momento da vida. Além disto, sua composição também pode variar de acordo com a dieta do animal (Abdel-Rahman 2008; Abdel-Rahman et al., 2009), uma vez que há relatos que os compostos podem ser sintetizados a partir de precursores ou que são sequestrados do ambiente pelos organismos para compor o veneno (Savitzky et al., 2012). Este mecanismo de sequestro de substâncias já foi descrito em serpentes e anfíbios (Saporito et al., 2007; Savitzky et al., 2012).

Ainda que o veneno dos Himenópteros sociais seja conhecido desde o final do século XIX, pouco se sabe sobre sua composição, propriedades farmacológicas, mecanismos de ação e alergenicidade (Palma & Braga, 1994) e, até mesmo sobre a influência que o ambiente pode ter sobre este composto.

O veneno dos Himenópteros é constituído de complexos de moléculas orgânicas, proteínas, peptídeos, lipídeos, amins vasoativas (norepinefrina, histamina e dopamina) e enzimas como fosfolipases, hialuronidasas e fosfatases (Edstron, 1992; Lima & Brochetto-Braga, 2003), mas pode ser descrito como predominantemente constituído por proteínas e peptídeos, ou como uma mistura complexa de compostos de baixa massa molecular (Palma, 2006). Especificamente para o veneno das vespas sociais, diversos componentes proteicos já foram descritos: proteínas, peptídeos e glicoproteínas, além de aminoácidos, amins biogênicas, catecolaminas e alguns componentes voláteis (Piek, 1991; Beleboni et al., 2004; Kolarich et al., 2007).

Dentre os compostos já identificados em venenos de vespas podemos citar: a agelotoxina fosfolipase A2 no veneno de *Agelaia pallipes pallipes* (Olivier) (Costa & Palma, 2000). Além de componentes voláteis como espiroacetatos, amidas, propionamida e acetados saturados, os quais foram identificados a partir da análise do veneno em cinco espécies de vespas *Polistes* (*P. dominula*, *P. gallicus* (Linnaeus), *P. nimphus* (Christ), *P. sulcifer* e *P. olivaceus* (De Geer), compostos estes que diferiram qualitativamente e quantitativamente entre as espécies (Bruschini et al., 2006b).

Trabalhos com vespas sociais demonstram que os componentes voláteis do veneno, ainda podem atuar como feromônios de alarme, os quais tem papel fundamental na defesa da

colônia, provocando o comportamento de alerta entre companheiras de ninho e ao ataque perante inimigos naturais (Jeanne, 1982; Maschwitz, 1984; Dani et al., 2000; Ono et al., 2003; Fortunato et al., 2004). Bruschini et al. (2006a), por exemplo, demonstraram que os componentes voláteis do veneno de *P. dominula* provocam uma resposta de alarme na colônia, seja quando estimulada visualmente ou quimicamente pelos extratos de veneno.

Além disso, a atividade antimicrobiana do veneno já foi relatada em formigas, como *Solenopsis invicta* (Buren) por Storey et al. (1991) e *Pachycondyla goeldii* (Forel) (Orivel et al., 2001), e em vespas *Protonectarina sylveirae* (Saussure) (Dohtsu et al., 1993), *Vespa basalis* (Linnaeus) (Park et al., 1995) e *A. pallipes pallipes* (Mendes et al., 2004). Outras atividades biológicas já foram comprovadas nos venenos de vespas: ação inseticida; antimicrobiana, como os peptídeos dominulina A e B identificados no veneno de *P. dominula* (Turillazzi et al., 2006); ação citotóxica; e de neurotoxicidade. Efeitos anticonvulsivantes foram encontrados no veneno de *Polybia occidentalis* (Olivier) (Mortari et al., 2007) e atividade anti-inflamatória em *Polybia paulista* (Ihering) (Souza et al., 2004).

Dessa forma, conhecer a composição química do veneno é a primeira etapa para elaboração de estratégias que permitam compreender os possíveis usos dos compostos na farmacologia, sendo ainda importante para entender como estes compostos agem em presas ou inimigos naturais da espécie. Além disso, em termos mais aplicados, a indústria farmacológica atualmente carece de novos compostos que possam responder melhor ao combate a microorganismos, uma vez que pelos próprios aspectos evolutivos as atuais linhagens estão cada vez mais resistentes.

Apesar do que foi exposto acima, o conhecimento sobre a composição do veneno das vespas sociais em geral ainda é muito limitado, pois há dificuldades para se obter quantidades suficientes que permita avaliar de forma mais precisa a composição dos venenos destes insetos (Lima & Brochetto-Braga, 2003; Favreau et al., 2006). Apesar dos poucos estudos já realizados com vespas sociais a variedade de moléculas peptídicas encontradas nos venenos destes insetos torna-os atrativos para a expansão de nossos conhecimentos sobre a sua bioquímica, fisiologia e farmacologia dos mesmos. Além disto, poucos estudos já exploraram os diferentes aspectos que possa levar à variação da composição do veneno em vespas sociais, sobretudo, naquelas de fundação independente.

Referências Bibliográficas

Abdel-Rahman, M.A. (2008). Intraspecific diversity of scorpions venom and its implication in the pathophysiological effects. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 14(1): 191-192.

Abdel-Rahman, M.A., Omran, M.A.A., Abdel-Nabi, I.M., Ueda, H. & Mcvean, A. (2009). Intraspecific variation in the Egyptian scorpion *Scorpio maurus palmatus* venom collected from different biotopes. *Toxicon*, 53:349–359.

Alexander, R.D. (1974). The evolution of social behavior. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5:323–383.

Ali, M.F. & Morgan. D. (1990). Chemical communication in insect communities: a guide to insect pheromones with special emphasis on social insects. *Biological Reviews*, 65:227-247.

Antonialli-Junior, W.F., Lima, S.M., Andrade, L.H.C. & Suárez, Y.R. (2007). Comparative study of the cuticular hydrocarbon in queens, workers and males of *Ectatomma vizzotoi* (Hymenoptera: Formicidae) by Fourier transform-infrared photoacoustic spectroscopy. *Genetics and Molecular Research*, 6:492–499.

Arnold, A.E., Maynard, Z., Gilbert, G.S., Coley, P.D. & Kursar, T.A. (2000). Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology Letters*, 3:267–274.

Badhe, R.V., Thomas, A.B., Harer, S.L., Deshpande, A.D., Salvi, N. & Waghmare, A., (2006). Intraspecific variation in protein of red scorpion (*Mesobuthus tamulus*, Coconsis, Pocock) venoms from Western and Southern India. *Journal of Venomous Animals Toxins and Tropical Diseases*, 12(4): 612–619.

Bagnères, A.G. & Morgan, E.D. (1991). The postpharyngeal glands and the cuticle of Formicidae contain the same characteristic hydrocarbons. *Experientia*, 47:106–111.

Bagnères, A.G., Lorenzi, M.C., Dusticier, G., Turillazzi, S. & Clément, J.L. (1996). Chemical usurpation of a nest by paper wasp parasites. *Science*, 272:889–892.

Baracchi, D., Dapporto, L., Tesse, S., Hashim, R. & Turillazzi, S. (2010). Medium molecular weight polar substance of the cuticle as tools in the study of the taxonomy, systematics and chemical ecology of tropical hover wasps (Hymenoptera: Stenogastrinae). *Journal of Zoology and Systematics Evolution*, 48(2):109–114.

Beleboni, R.O., Pizzo, A.B., Fontana, A.C., Carolino, R.O.G., Coutinho-Netto, J. & Dos Santos, W.F. (2004). Spider and wasp neurotoxins: pharmacological and biochemical aspects. *European Journal of Pharmacology*, 493(1-3):1–17.

Billen, J. & Morgan, E.D. (1998). Pheromone communication in social insects - sources and secretions. In: Vander Meer, R.K., Breed, M.D., Winston, M.L. & Espelie, K.E.(eds), *Pheromone Communication in Social Insects: Ants, Wasps, Bees, and Termites*. Westview Press, Boulder, Oxford, p.3-33.

Blomquist, G.J. (2010). Structure and analysis of insect hydrocarbons, pp. 19–34, in G. J. Blomquist and A.-G.Bagnères (eds.). *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology*. Cambridge University Press, New York.

Blum, M.S., Fales, H.M., Morse, R.A. & Underwood, B.A. (2000). Chemical characters of two related species of giant honeybees (*Apis dorsata* and *A. laboriosa*): possible ecological significance. *Journal of Chemical and Ecology*, 26:801–807.

Bonavita-Gougourdan, A., Theraulaz, G., Bagnères, A.G., Roux, M., Pratte, M., Provost, E. & Clément, E.L. (1991). Cuticular hydrocarbons, social organization and ovarian development in a polistine wasp: *Polistes dominulus* Christ. Comparative Biochemistry and Physiology, 100B(4):667-680.

Bonelli, M., Lorenzi, M.C., Christidès, J.P., Dupont, S. & Bagnères, A.G. (2015). Population Diversity in Cuticular Hydrocarbons and mtDNA in a Mountain Social Wasp. Journal of Chemical Ecology, 41(1):22-31. Doi: 10.1007/s10886-014-0531-0.

Bruschini, C., Cervo, R. & Turillazzi, S. (2006a). Evidence of alarm pheromones in the venom of *Polistes dominulus* workers (Hymenoptera: Vespidae). Physiological Entomology, 31:286–293.

Bruschini, C., Dani, F.R., Pieraccini, G., Guarna, F. & Turillazzi, S. (2006b). Volatiles from the venom of five species of paper wasps (*Polistes dominulus*, *P. gallicus*, *P. nimphus*, *P. sulcifer* and *P. olivaceus*). Toxicon, 47:812–825.

Bruschini, C., Cervo, R., Dani, F.R. & Turillazzi, S. (2007). Can venom volatile be a taxonomic tool for *Polistes* wasps (Hymenoptera, Vespidae). Journal of Zoological and Systematics Evolution Research, 45:202–205.

Carpenter, J.M. & Marques, O.M. (2001). Contribuição ao estudo dos vespídeos do Brasil (Insecta, Hymenoptera, Vespoidae, Vespidae). Cruz das Almas, Universidade Federal da Bahia. Publicações Digitais, Vol. II

Cervo, R., Dapporto, L., Beani, L., Strassmann, J. & Turillazzi, S. (2008). On status badges and quality signals in the paper wasp *Polistes dominulus*: body size, facial colour patterns and hierarchical rank. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 275:1189-1196.

Costa, H. & Palma, M.S. (2000). Agelotoxin: a phospholipase A2 from the venom of the neotropical social wasp *Agelaia pallipes pallipes* (Hymenoptera-Vespidae). *Toxicon*, 38:1367–1379.

Cotoneschi, C., Dani, F.R., Cervo, R., Scala, C., Strassmann, J.E., Queller, D.C. & Turillazzi, S. (2009). *Polistes dominulus* (Hymenoptera, Vespidae) larvae show different cuticular patterns according to their sex: workers seem not use this chemical information. *Chemical and Sensors*, 34:195–202.

D’Ettorre, P. & Lenoir, A. (2010). Nestmate recognition. In *Ant ecology* (eds L Lach, CL Parr, KL Abbott), pp. 194 – 209. Oxford, UK: Oxford University Press.

Daltry, C.J., Wuster, W. & Thorpe, S.R. (1997). The role of ecology in determining venom variation in the Malayan pitviper, *Calloselasma rhodostoma*. *Symposia of the Zoological Society of London*, 70:155–171.

Dani, F.R., Fratini, S. & Turillazzi, S. (1996). Behavioral evidence for the involvement of Dufour’s gland secretion in nestmate recognition in the social wasp *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae). *Behavior of Ecology and Sociobiology*, 38:311–319.

Dani, F.R., Jeanne, R.L., Clarke, S.R., Jones, G.R., Morgan, E.D., Francke, W. & Turillazzi, S. (2000). Chemical characterization of the alarm pheromone in the venom of *Polybia occidentalis* and of volatiles from the venom of *P. sericea*. *Physiological Entomology*, 25:363–369.

Dapporto, L., Palagi, E. & Turillazzi, S. (2004). Cuticular hydrocarbons of *Polistes dominulus* as a biogeographic tool: a study of populations from the Tuscan archipelago and surrounding areas. *Journal of Chemical Ecology*, 30:2139–2151.

Dohtsu, K., Okumura, K., Palma, M.S. & Nakajima, T. (1993). Isolation and sequence analysis of peptides from the venom of *Protonectarina sylveirae* (Hymenoptera – Vespidae). *Natural Toxins*, New York, 1:271-6.

Edstron, A. (1992). *Venomous and poisonous animals*. Krieger Publishing Company. Malabar. 210p.

Espelie, K.E., Butz, V.M. & Dietz, A. (1990). Dextydecanoate: A major component of the tergite glands of honeybee queens (*Apis mellifera* L.). *Journal of Apicultural Research*, 29:15–19.

Espelie, K.E. & Hermann, H.R. (1990). Surface lipids of the social wasp *Polistes annularis* (L.) and its nest and nest pedicel. *Journal of Chemical Ecology*, 16:1841 - 1852.

Fadl Ali M. & Morgan E.D. (1990). Chemical communication in insect communities: a guide to insect pheromones with special emphasis on social insects. *Biological Reviews*, 65(3): 227-247. Doi: 10.1111/j.1469-185X.1990.tb01425.x

Favreau, J.M., Drew, C.A. & Hess G.R. (2006). Recommendations for assessing the effectiveness of surrogate species approaches. *Biodiversity and Conservation*, 15(12):3949–3969. Doi: 10.1007/s10531-005-2631-1.

Fortunato, A., Dani, F.R., Sledge, M.F., Fondelli, L. & Turillazzi, S. (2004). Alarm communication in *Ropalidia* social wasps. *Insects Sociaux*, 51:299–305.

Gamboa, G.J., Reeve, H.K., Ferguson, I.D., Wacker, T.L. (1986a). Nestmate recognition in social wasps: the origin and acquisition of recognition odours. *Animal Behaviour*, 34:685-695.

Gamboa, G.J., Reeve, H.K. & Pfennig, D.W. (1986b). The evolution and ontogeny of nestmate recognition in social wasps. *Annual Review of Entomology*, 31:431-454.

Gamboa, L.A.P., Esteves, F.R., Shimabukuro, S., Carminatti, M., Peres, W.E. & Souza, Cruz, C.E. (1986). Evidências de variações de nível do mar durante o Oligoceno e suas implicações faciológicas. In: SBG, Congresso Brasileiro de Geologia, 34, Goiânia, Anais, 1:8-22.

Gamboa, G.J. (1996). Kin recognition in social wasps. In: Turillazzi, S., Westeberhard, M. J. *Natural History and Evolution of Paper-Wasps*. Oxford University Press, p. 161-177.

Gamboa, G.J. (2004). Kin recognition in eusocial wasps. *Annales Zoologici Fennici*, 41:789-808.

Gibbs, A.G. & Rajpurohit, S. (2010). Water-proofing properties of cuticular lipids. In *Insect Lipids; Biology, Biochemistry and Chemical Biology* (eds GJ Blomquist, AG Bagnères), pp. 100- 120. Cambridge, UK: Cambridge Publisher.

Grimaldi, D.A. & Engel, M.S. (2005). *Evolution of the insects*. New York, Cambridge University Press, 770p.

Gullan, P.J. & Cranston, P.S. (2007). *Os insetos: um resumo de entomologia*. Editora Roca Ltda, São Paulo, 440 p.

Hamilton, W.D. (1964a). The genetical evolution of social behavior I. *Journal of Theoretical Biology*, 7:1-16.

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

Izzo, A., Wells, M., Huang, Z. & Tibbetts, E. (2010). Cuticular hydrocarbons correlate with fertility, not dominance, in a paper wasp, *Polistes dominulus*. *Behaviour and Ecology Sociobiology*, 64:857–874.

Jeanne, R.L. (1975). The adaptivness of social wasps nest architecture. *Quarterly Review Biology*, 50:267–287.

Jeanne, R.L. (1982). Evidence for an alarm substance in *Polistes canadensis*. *Experientia*, 38:329–330.

Kaib, M., Brandl, R. & Bagine, R.K.N. (1991). Cuticular Hydrocarbons Profiles: a valuable tool in termite taxonomy. *Naturwissenschaften*, 78:176–179.

Kolarich, D., Loos, A., Léonard, R., Mach, L., Marzban, G., Hemmer, W. & Altmann, F. (2007). A proteomic study of the major allergens from yellow jacket venoms. *Proteomics*, 7:1615–1623.

Layton, J.M., Camann, M.A. & Espelie, K.E. (1994). Cuticular lipids profiles of queens, workers and males of social wasp *Polistes metricus* say are colony-specific. *Journal of Chemical Ecology*, 20(9):2307–2321.

Lima, M.R. & Brochetto-Braga, M.R. (2003). Hymenoptera venom review focusing on *Apis mellifera*. *Journal Venomous Animals Toxins and Tropical Diseases*, 9(2):149-162.

Lockey, K.H. (1988). Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comparative Biochemical Physiology*, 89B:595-645.

Lorenzi, M. C., Bagnères, A. & Clément, J. (1996). The role of cuticular hydrocarbons in social insects: is it the same in paper-wasps? In: Turillazzi, S., West-Eberhard, M.J. Natural History and Evolution of Paper-Wasps. Oxford University Press, p. 98-112.

Lorenzi, M.C. & Bagnères, A-G. (2002). Concealing identity and mimicking hosts: A dual chemical strategy for a single social parasite? (*Polistes atrimandibularis*, Hymenoptera: Vespidae). *Parasitology*, 125:507–512.

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

Lorenzi, M.C. (2006). The result of an arms race: The chemical strategies of *Polistes* social parasites. *Annales Zoology Fennici*, 43:550–563.

Macalintal, E.A. & Starr, C.K. (1996). Comparative morphology of the stinger in the social wasp genus *Ropalidia* (Hymenoptera: Vespidae). *Memoirs of the Entomological Society of Washington*, 17:108-115.

Martin, S.J., Helantera, H. & Drijfhout, F.P. (2008). Evolution of species-specific cuticular hydrocarbon patterns in *Formica* ants. *Biological Journal of Linneaus Society*, 95:131–140.

Maschwitz, U. (1984). Alarm pheromone in the long-cheeked wasp *Dolichovespula saxonica* (Hymenoptera: Vespidae). *Deutsche Entomological Zeitschrift*, 31:33–34.

McGlynn, P.T. (2012). The ecology of nest movement in social insects. *Annual Review of Entomology*, 57:291-308. Doi: 10.1146/annurev-ento-120710-100708

Mendes, M.A., Souza, B.M., Santos, L.D. & Palma, M.S. (2004). Structural characterization of novel chemotactic and mastoparan peptides from the venom of the social wasp *Agelaia pallipes* by high performance liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry Rapid Commun. Mass Spectrometry, 181(7).

Michener, C.D. (1974). The social behavior of the bees: a comparative study. Harvard University Press, Cambridge, 404p.

Mitra, A. & Gadagkar, R. (2014). Dufour's gland and cuticle in the social wasp *Ropalidia marginata* contain the same hydrocarbons in similar proportions. Journal of Insect Science, 14:9.

Moore, K.L. & Persaud, T.V.N. (2008). Embriologia Básica. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier.

Mortari, M.R., Cunha, A.O.S., Oliveira, L., Vieira, E.B., Gelfuso, E.A., Coutinho-Netto, J. & dos Santos, W.F. (2007). Anticonvulsant and behavioural effects of the denatured venom of the social wasp *Polybia occidentalis* (Polistinae, Vespidae). Basic & Clinical Pharmacology and Toxicology, 97(5): 289–95.

Neves, E.F., Andrade, L.H.A., Suárez, Y.R., Lima, S.M. & Antonialli-Junior, W.F. (2012). Age-related changes in the surface pheromones of the wasp *Mischocyttarus consimilis* (Hymenoptera: Vespidae). Genetics and Molecular Research, 11(3):1891–1898.

Ono, M., Terabe, H., Hori, H. & Sasaki, M. (2003). Components of giant hornet alarm pheromone. Nature, 424:637–638.

Orivel, J., Redeker, V., Le Caer, J.-P., Krier, F., Revol-Junelles, A.-M., Longeon, A., Chaffotte, A., Dejean, A. & Rossier, J. (2001). Ponericins, new antibacterial and insecticidal peptides from the venom of the ant *Pachycondyla goeldii*. Journal of Biology and Chemical, 276:17823-17829.

Palma, M.S., Braga, M.R.B. (1994). Venenos de “Hymenoptera” sociais: Coleta, composição, bioquímica e mecanismos de ação. In: Barraviera, B. (Org). Venenos animais – Uma visão integrada. EPUC, RJ, 251-258.

Palma, M.S. (2006). Insect venom peptides. In: Kastin, A. J. Handbook of biologically active peptides. 1 st ed., Oxford: Academic Press, p. 389-396.

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

Panek, L.M., Gamboa, G. & Espelie, K.E. (2001). The Effect of a Wasp's Age on Its Cuticular Hydrocarbon Profile and Its Tolerance by Nestmate and Non-Nestmate Conspecifics (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae). Ethology, 107(1):55-63.

Park, N.G., Yamato, Y., Lee, S. & Sugihara, G. (1995). Interaction of mastoparan-B from venom of a hornet in Tawian with phospholipid bilayers and its antimicrobial activity. Biopolymers, New York, 36:793-801.

Piek, T. (1991). Neurotoxic kinins from wasp and ant venoms. Toxicon, 29(2):139–149.

Provost, E., Blight, O., Tirard, A. & Renucci, M. (2008). Hydrocarbons and insects' social physiology. In: Maes R.P. (Ed.). pp. 19–72. *Insect Physiology: new research*. Nova Science Publishers.

Richard, F.J. & Hunt, J.H. (2013). Intracolony chemical communication in social insects. *Insects Sociaux*, 60:75–291. Doi:10.1007/s00040-013-0306-6

Ross, N.M. & Gamboa, G.J. (1981). Nestmate discrimination in social wasps (*Polistes metricus*, Hymenoptera: Vespidae). *Behaviour and Ecology Sociobiology*, 9:163–165.

Saporito, R.A., Zuercher, R., Roberts, M., Gerow, K.G. & Donnelly, M.A. (2007). Experimental evidence for aposematism in the Dendrobatid poison frog *Oophaga pumilio*. *Copeia* (4), p. 1006-1011. [http://dx.doi.org/10.1643/0045-511\(2007\)7\[1006:EEFAIT\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1643/0045-511(2007)7[1006:EEFAIT]2.0.CO;2).

Savitzky, A.H., Mori, A., Hutchinson, D.A., Saporito, R.A., Burghardt, G.M., Lillywhite, H.B. & Meinwaile, J. (2012). Sequestered defensive toxins in tetrapod vertebrates: principles, patterns, and prospects for future studies. *Chemoecology*, 22:141-158.

Singer, T.L. & Espelie, K.E. (1992). Social wasps use nest paper hydrocarbons for nestmate recognition. *Animals Behaviour*, 44:63–68.

Singer, T.L. & Espelie, K.E. (1997). Exposure to nest paper hydrocarbons is important for nest recognition by a social wasp *Polistes metricus* Say (Hymenoptera: Vespidae). *Insects Sociaux*, 44:245–254

Singer, H.S., Giuliano, J.D., Hansen, B.H., Hallett, J.J., Laurino, J.P., Benson, M. & Kiessling, L.S. (1998). Antibodies against human putamen in children with Tourette syndrome. *Neurology*, 50:1618–24.

Sledge, M.F., Boscaro, F. & Turillazzi, S., (2001). Cuticular hydrocarbons and reproductive status in the social wasp *Polistes dominulus*. Behaviour and Ecology Sociobiology, 49:401–409.

Soares, E.R.P., Torres, V. de O. & Antonialli-Junior, W.F. (2014). Reproductive Status of Females in the Eusocial Wasp *Polistes ferrerii* Saussure (Hymenoptera: Vespidae). Neotropical Entomology, 43:500-508.

Soroker, V., Vienne, C., Hefetz, A. & Nowbahari, E. (1994). The postpharyngeal glands as a “Gestalt” organ for nestmate recognition in the ant *Cataglyphis niger*. Naturwissenschaften, 81:510–513.

Souza, B.M., Marques, M.R., Tomazela, D.M., Eberlin, M.N., Mendes, M.A. & Palma, M.S. (2004). Mass spectrometric characterization of two novel inflammatory peptides from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 18:1095–102.

Storey, G.K., Vander Meer, R.K., Boucias, D.G. & McCoy, C.W. (1991). Effect of fire ant (*Solenopsis invicta*) venom alkaloids on the in vitro germination and development of selected entomogenous fungi. Journal of Invertebrates Pathology, 58:88–95.

Sturgis, S.J. & Gordon, D.M. (2012). Nestmate recognition in ants (Hymenoptera: Formicidae): a review. Myrmecology News, 16:101-110.

Tannure-Nascimento, I.C., Nascimento, F.S., Turatti, I.C., Lopes, N.P., Trigo, J.R. & Zucchi, R. (2007). Colony membership is reflected by variations in cuticular hydrocarbon profile in a Neotropical paper wasp, *Polistes satan* (Hymenoptera, Vespidae). Genetics and Molecular Research, 6(2):390-396.

Tokoro, M. & Makino, S. (2011). Colony and caste specific cuticular hydrocarbon profiles in the common Japanese hornet, *Vespa analis* (Hymenoptera, Vespidae), Japan Agricultural Research Quarterly, 45(3):277–283.

Torres, V.O., Sguarizi-Antonio, D., Lima, S.M., Andrade, L.H.C. & Antonialli-Junior, W.F. (2014). Reproductive status of the social wasp *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae), Sociobiology, 61(2):218-224.

Turillazzi, S., Sledge M. F., Dani F. R., Cervo R., Massolo A. & Fondelli L. (2000). Social hackers: integration in the host chemical recognition system by a paper wasp social parasite. Naturwissenschaften, 87:172-176.

Turillazzi, S., Mastrobuoni, G., Dani, F.R., Moneti, G., Pieraccini, G., La Marca, G., Bartolucci, G., Perito, B., Lambardi, D., Cavallini, V. & Dapporto, L. (2006). Dominulin A and B: two new antibacterial peptides identified on the cuticle and in the venom of the social paper wasp *Polistes dominulus* using maldi-tof, maldi-tof/tof, and ESI-ion trap. Journal of American Society Mass Spectrometry, 17:376–83.

Vander Meer, R.K. (1986). Chemical taxonomy as a tool for separating *Solenopsis* spp. In: Lofgren C.S. & Vander Meer R.K. (Eds). pp. 316–326. Fire Ants and Leaf Cutting Ants: Biology and Management. Westview Press, Boulder, CO.

Velthuis, H.H.W. (1970). Queen substance from the abdomen of honey bee queen. Physiologie, 70:210-222.

Vilela, E.F. & Della Lucia, T.M.C. (2001). Feromônios de insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas. Holos Editora, Ribeirão Preto. 2º. Ed. 206pp

Wenzel, J.W. (1998). A generic key to the nests of hornets, yellowjackets, and paper wasps worldwide (Vespidae: Vespinae, Polistinae). *American Museum Novitates*, 3224: 1–39.

Wilson, E.O. (1971). *The insects societies*. Cambridge, Belknap Press of Harvard University Press, 548p.

Zahavi, A. (2008). The handicap principle and signalling in collaborative systems. In: D'Ettorre, P., Hughes, D.P. (Ed.). *Sociobiology of communication: an interdisciplinary perspective*. New York: Oxford University Press, 1: 1–9.

Variação do perfil químico da cutícula e do veneno de vespas Polistinae (Hymenoptera, Vespidae)

RESUMO: As vespas sociais produzem diversos tipos de compostos químicos que servem tanto para mediar interações comportamentais em suas colônias como para captura de presa e defesa de suas colônias. No entanto, o conhecimento sobre a composição destes compostos e qual a influência que o ambiente exerce sobre ela ainda é limitada, seja pelas dificuldades de obtenção das amostras, de análise ou pela complexidade desses compostos. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a variação intra e interespecífica do perfil químico da cutícula e do veneno de vespas sociais Polistinae e sua relação com a idade da operária, por meio da espectroscopia de absorção fotoacústica no infravermelho médio (do inglês, *Fourier Transform Infrared Photoacoustic Spectroscopy* - FTIR-PAS). Para isso foram coletadas colônias de 3 espécies de vespas do gênero *Polistes*, nidificadas em diferentes locais e ambientes nos estados de Mato Grosso do Sul e Paraná. Pelos espectros de absorção da cutícula e do veneno foi possível identificar os principais picos de absorção, cujas intensidades e posição em número de onda foram posteriormente analisados por meio de análise discriminante. Os resultados comprovam que os perfis químicos da cutícula e do veneno são influenciados tanto por fatores genéticos quanto por fatores exógenos, uma vez que as análises estatísticas apontam diferenças significativas entre as espécies e também entre ambientes de nidificação de suas colônias. Por outro lado, o perfil químico cuticular não varia significativamente ao longo da idade, enquanto o perfil químico do veneno sim e estas mudanças estão, provavelmente,

relacionadas às alterações na execução de tarefas de acordo com a ontogenia comportamental, uma vez que fêmeas mais velhas estão envolvidas mais efetivamente na atividade de forrageamento e defesa da colônia.

Palavras-chave: ferrão; hidrocarbonetos; idade; *Polistes*.

ABSTRACT: The social wasps produce various types of chemical compounds that serve both to mediate behavioral interactions in their colonies and to capture prey and defend their colonies. However, knowledge about the composition of these compounds and the influence that the environment has on it is still limited, either by the difficulties of obtaining samples, analysis or the complexity of these compounds. Thus, the aim of this study was to evaluate the intra- and interspecific variation in the chemical profile of the cuticle and social wasps Polistinae venom and its relation to the working age by photoacoustic spectroscopy absorption in the mid-infrared (English, Fourier Transform Infrared photoacoustic Spectroscopy - FTIR-PAS). For that were collected colonies of 3 species of wasp *Polistes* gender, nidificadas in different places and environments in the states of Mato Grosso do Sul and Paraná. For the absorption spectra of the cuticle and venom was possible to identify the major absorption peaks whose intensity and position wavenumber were subsequently analyzed using the discriminant analysis. The results show that the chemical profiles of the cuticle and poison are influenced by both genetic factors and by exogenous factors, since the statistical analyzes show significant differences between species and between nesting environments of their colonies. On the other hand, the cuticular chemical profile does not vary significantly over the age, while the chemical profile and poison but these changes are probably related to changes in performing tasks according to behavioral

ontogeny, since older females are involved more effectively in foraging activity and defense of the colony.

Keywords: sting; hydrocarbons; age; *Polistes*.

Introdução

Os primeiros ancestrais das vespas surgiram por volta de 60 milhões de anos atrás, no Eoceno (Barravieira, 1994). Estes organismos conhecidos popularmente por “marimbondos” pertencem à família Vespidae, que é representada atualmente por seis subfamílias (Euparagiinae, Stenogastrinae, Vespinae, Masarinae, Eumeninae, Polistinae), cujas três últimas possuem representantes no Brasil, com a Polistinae merecendo destaque por sua distribuição cosmopolita (Jeanne, 1972; Carpenter, 1982; Carpenter & Marques, 2001).

Dentre esses grupos, as vespas eussociais são encontradas nas subfamílias Stenogastrinae representada por uma única espécie e todos os Vespinae e Polistinae (Carpenter & Marques, 2001), das quais apenas Polistinae ocorre no Brasil. Esta eussocialidade é definida a partir de três características: cuidado cooperativo com a prole, divisão de trabalho reprodutivo e sobreposição de gerações adultas (Wilson, 1971).

Em colônias de vespas sociais, como em outros grupos sociais foi necessário desenvolver um mecanismo de comunicação entre os indivíduos, por meio de sinais, em que há sempre emissores receptores de mensagens (Ferreira-Caliman et al., 2010). Estes sinais podem ser

emitidos de diferentes formas, visuais, sonoros, tácteis, e os mais efetivos, no caso da sociedade de insetos, os químicos (Izzo et al., 2010; Khidr et al., 2013).

Sinais químicos trocados entre indivíduos de uma mesma espécie são denominados de feromônios (Leal, 2005) e, neste sentido, os insetos podem usar de uma grande variedade deles para interagir com coespecíficos. Uma classe especial destes compostos são os chamados feromônios de superfície, que atuam como uma assinatura química e tem papel de destaque durante as interações em colônias de insetos sociais (Espelie et al., 1990; Gamboa et al., 1996; Antonialli-Junior et al., 2008; Provost et al., 2008; Blomquist & Bagnères, 2010).

Outro aspecto importante do sucesso evolutivo das vespas, sobretudo as sociais, envolvendo outros compostos químicos produzidos por elas, foi o surgimento do aparelho de ferrão, o qual evoluiu como um importante mecanismo para captura de presas e defesa da colônia (Grimaldi & Engel, 2005). Este aparelho de ferrão, presente no grupo Aculeata, é constituído por filamentos secretores denominados: glândula de Dufour, a qual é individualmente conectada a um reservatório; glândula de veneno, que por sua vez se liga ao ferrão por um ducto excretor (Schoeters & Billen, 1995) e que é formado pela parte glandular, na qual o veneno e outras substâncias são produzidas, e a parte motora, na qual estruturas quitinosas e musculares atuam conjuntamente na protrusão/extrusão do ferrão, ejetando o veneno (Manzoli-Palma & Gobbi, 1997). Nas vespas sociais o ferrão é de extrema importância para o comportamento de defesa da colônia, uma vez que quando ameaçadas as fêmeas deixam sua colônia para atacar a fonte de perturbação, muitas vezes ferroando o agente perturbador. No entanto, essa atividade de defesa está diretamente relacionada à função que a fêmea exerce na colônia, uma vez que em insetos sociais é comum as operárias executarem mais frequentemente

determinadas tarefas durante parte de suas vidas (Wilson, 1971), fenômeno denominado de polietismo temporal (Seeley, 1982; Naug & Gadagkar, 1998).

Neste sentido, trabalhos com repertório comportamental de *Polistes* revelam a existência de uma correlação entre a idade da operaria e a tarefa por ela desenvolvida (Giannotti, 1997; Zara & Balestieri, 2000; Torres et al., 2012). Estes autores relatam que as operárias mais velhas atuam mais efetivamente na atividade forrageadora e de defesa da colônia, tarefas que envolvem maiores gastos energéticos e riscos de mortalidade, expondo a vespa a predadores, levando a uma diminuição na longevidade; enquanto fêmeas mais jovens desenvolvem tarefas intranidais. Portanto, é possível que a composição do veneno de vespas sociais se altere ao longo da idade da fêmea, uma vez que em abelhas já foi comprovado que essa composição varia de acordo com a idade da operária (Owen, 1978,1990).

A função primordial do veneno nas vespas foi para possibilitar a captura de presas, entretanto, também tornou-se um eficiente meio de intimidação para potenciais inimigos e adquiriu importante função de defesa, principalmente nas espécies sociais (Macalintal & Starr, 1996).

Diversos são os componentes proteicos encontrados nos venenos de vespas: proteínas, peptídeos e glicoproteínas, além de aminoácidos, aminas biogênicas, catecolaminas e alguns componentes voláteis (Piek, 1991; Belebony et al., 2004; Kolarich et al., 2007). Além disso, diversas são as atividades biológicas já comprovadas nos venenos de vespas: ação inseticida; antimicrobiana, como os peptídeos dominulina A e B identificados no veneno de *Polistes dominula* (Christ) (Turillazzi et al., 2006), ação citotóxica e de neurotoxicidade. Além disto, efeitos anticonvulsivantes foram observados a partir do veneno de *Polybia occidentalis* (Olivier)

(Mortari et al., 2007) e atividade anti-inflamatória de *Polybia paulista* (Ihering) (Souza et al., 2004).

Entretanto, existem variações tanto inter quanto intraespecíficas na composição do veneno, uma vez que, além das diferenças com base genética, existe a variação de acordo com os componentes exógenos (Abdel-Rahaman, 2008; Abdel-Rahaman et al., 2009; Badhe et al., 2006; Daltry et al., 1997). Trabalhos como de Cologna et al. (2013) com formigas, de Badhe et al. (2006) e Abdel-Rahaman et al. (2009) com escorpiões e de Tsai et al. (2004) com serpentes já comprovaram variação no perfil químico do veneno entre populações, as quais estão relacionadas principalmente a diferenças ambientais e fonte alimentar.

Dentre as metodologias atualmente utilizadas para leitura de compostos presentes no veneno, podemos citar: A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC- High-Performance Liquid Chromatography) (Bougis et al., 1989) e a micro-extração em fase sólida por headspace (HS-SPME), seguida pela cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS) a qual foi proposta por Moneti et al. (1997) e posteriormente utilizada em trabalhos como de Bruschini et al. (2006a,b e 2007).

Contudo, desde 2007 têm se utilizado a espectroscopia de absorção por detecção fotoacústica no infravermelho médio por transformada de Fourier (do inglês, *Fourier Transform Infrared Photoacoustic Spectroscopy* - FTIR-PAS) para leitura dos compostos químicos cuticulares em estudos de distinção de castas, sexo e espécies de formigas (Antoniali-Junior et al., 2007 e 2008) bem como para diferenciação de idade, aquisição do perfil químico e parasitismo em vespas Polistinae (Neves et al., 2012 e 2013). Os resultados encontrados nestes trabalhos são coerentes e confiáveis. Entretanto, a análise do veneno usando esta técnica é uma nova perspectiva para avaliar diferenças inter e intraespecíficas.

A técnica FTIR-PAS permite identificar vibrações de grupos químicos moleculares e possibilita identificação e distinção de radicais moleculares e dos tipos de ligações químicas (Smith, 1999). Além disso, esta técnica possui inúmeras vantagens, dentre elas, a não destruição da amostra, rapidez nos resultados e o poder de análise em materiais de tamanho reduzido e de grande fragilidade, como os materiais biológicos (Greene et al., 1992; Skoog et al., 2002).

Portanto, apesar do grande número de estudos com vespas sociais que avaliaram a composição química do veneno, pouco se sabe a respeito das fontes de variação da composição destas substâncias.

OBJETIVO GERAL

Utilizar a técnica FTIR-PAS para avaliar variações inter e intraespecíficas do perfil químico da cutícula e do veneno de vespas de fundação independente do gênero *Polistes*.

Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar diferenças inter e intraespecíficas do perfil químico da cutícula e do veneno de três espécies de vespas do gênero *Polistes*, por meio da FTIR-PAS;
- ✓ Avaliar a relação entre o perfil químico da cutícula e do veneno com as idades relativas das vespas.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta, preparação do material e caracterização dos ambientes de nidificação das colônias

Foram coletadas no total 43 colônias de vespas sociais de fundação independente das espécies *Polistes ferrerii* (Saussure), *Polistes lanio* (Fabricius) e *Polistes versicolor* (Olivier), com auxílio de recipientes plásticos contendo algodão umedecido com éter, que em seguida foi

retirado para evitar decomposição dos compostos químicos. Em laboratório, as operárias foram armazenadas individualmente em eppendorf, mortas por congelamento e conservadas em freezer (-20°) até o momento da leitura. As espécies foram coletadas nas cidades de Mundo Novo (23° 56' 17" S; 54° 16' 15" W), Dourados (22° 13' 16" S; 54° 48' 20" W) e Ponta Porã-MS (22° 32' 10" S; 55° 43' 32" W) e em Guaíra-PR (24° 04' 48" S; 54° 15' 21" W). A quantidade de colônias, bem como o local e o tipo de ambiente em que as colônias estavam nidificadas estão descritos na tabela 01.

Tabela. I Espécies coletadas, quantidade de colônias em cada município e ambiente de nidificação em que se encontravam as colônias.

Espécie	Quantidade de colônias	Localidade	Ambiente
<i>Polistes ferreri</i>	08	Mundo Novo-MS	Rural
	02	Guaíra-PR	
<i>Polistes lanio</i>	05	Mundo Novo-MS	Urbana
	11		Rural
<i>Polistes versicolor</i>	03	Dourados-MS	Urbana
	03		Rural
	06	Mundo Novo-MS	Urbana
	05		Rural
	02	Ponta Porã-MS	Urbana

Os ambientes em que as colônias estavam nidificadas foram categorizados como proposto por Torres et al. (2014) em: Área Rural: composta predominantemente por poucas

construções, monoculturas de eucalipto e/ou cana de açúcar, além de criações de gado com tráfego reduzido de pessoas e Área Urbana: localizada nas áreas centrais das cidades, predominando construções humanas, e com intenso tráfego de pessoas e veículos.

Técnica de FTIR-PAS (*Fourier Transform Infrared Photoacoustic Spectroscopy*)

O perfil químico da cutícula e do veneno foi obtido por um FTIR-PAS da marca Thermo-Nicolet, modelo Nexus 670, combinado com um detector Fotoacústico (MTEC-300). O espectrofotômetro foi purgado com ar seco durante todo o experimento, afim de minimizar vapor de água e CO₂ do ambiente. Na leitura foi utilizada a região espectral do infravermelho médio que compreende de 4000 a 400 cm⁻¹ (Silverstein et al., 2000; Skoog et al., 2002). A célula fotoacústica foi purgada com gás hélio durante a aquisição do espectro de cada amostra e o espectro resultante de cada análise foi obtido pela média de 128 varreduras (“scans”) com resolução espectral de 16 cm⁻¹. Posteriormente, os principais picos de absorção referentes às vibrações de hidrocarbonetos e grupos aminas e amidas foram identificados, e suas intensidades foram separadas para interpretação estatística.

Diferenças interespecíficas no perfil químico da cutícula e do veneno de vespas Polistinae

Para as análises interespecíficas do perfil químico da cutícula e do veneno foram utilizadas apenas fêmeas categorizadas como mais velhas, uma vez que as análises prévias indicaram que, dependendo da idade do indivíduo, há diferenças em seus perfis químicos. Dessa forma, foram selecionadas fêmeas mais velhas porque estariam mais envolvidas nas atividades de defesa da colônia, como já sugerido por estudos com outros animais peçonhentos como cobras (Ying et al., 2014) e formigas (Cuvillier-Hot et al., 2001). Os trabalhos relatam que

indivíduos mais velhos possuem maior maturidade tanto no perfil químico cuticular quanto do veneno.

Para análise da composição química cuticular foram obtidos espectros de absorção das placas do quinto esternito abdominal de 10 fêmeas, da mesma idade relativa e de colônias nidificadas no mesmo tipo de ambiente. Como uma das vantagens dessa técnica é avaliar amostras pequenas e, como o objetivo do estudo não é descrever os compostos e sim avaliar as diferenças entre as amostras, a leitura foi realizada de forma padronizada nesta parte do corpo de cada fêmea. Esta região do gáster foi selecionada porque segundo Cuvillier-Hot et al. (2001), a maior concentração dos hidrocarbonetos cuticulares é encontrada no gáster.

A extração das glândulas de veneno foi realizada segundo a metodologia utilizada por Galvão (2005), no qual as fêmeas foram descongeladas naturalmente em temperatura ambiente e o aparato venenífero extraído do abdômen puxando-se o ferrão com uma pinça de dissecação anatômica, segundo a categoria de idade previamente definida. Foram extraídas as glândulas de 75 operárias de cada uma das colônias nidificadas em cada tipo de ambiente, de cada idade relativa.

Após a extração das glândulas elas foram levadas ao suporte do aparelho de FTIR-PAS, dispostas lado a lado em número de 5, para cada leitura, pressionadas levemente até expelir seu conteúdo e a leitura foi realizada, uma vez que os testes iniciais demonstraram que esse número de glândulas era suficiente para obtenção de um espectro com melhor resolução.

Diferenças intraespecíficas no perfil químico da cutícula e do veneno de *Polistes versicolor*

A relação entre o tipo de ambiente com o perfil químico da cutícula e do veneno foi avaliada com as amostras de *P.versicolor*, uma vez que foram coletadas um número maior de

colônias desta espécie (Tabela. I) nidificadas em 2 tipos diferentes de ambientes. A metodologia de extração e coleta dos espectros seguiu da mesma forma descrita acima.

Comportamento do perfil químico da cutícula e do veneno de acordo com as idades relativas em vespas Polistinae

As fêmeas foram categorizadas de acordo com as idades relativas em jovem, intermediária ou velha (adaptado de Torres et al., 2014), uma vez que este parâmetro pode influenciar os resultados. Esta idade foi determinada de acordo com a pigmentação progressiva do apódema do quinto esternito abdominal em: A (amarelo), M (marrom), e P (preto). Segundo Richards (1971), West-Eberhard (1973) e Forsyth (1978) este incremento na pigmentação indica uma progressão na idade dos indivíduos (Fig.1).

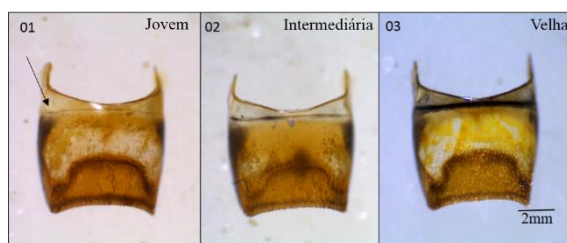


Figura 1. Determinação da idade relativa de cada fêmea para as espécies de *Polistes* por meio da coloração do apódema do quinto esternito abdominal. Fonte: Sguarizi-Antonio, D.

Análises Estatísticas

Para avaliar as diferenças inter e intraespecíficas do perfil químico cuticular e do veneno, bem como a sua relação com a idade relativa das fêmeas, os valores de intensidade dos picos dos espectros de absorção obtidos pelo FTIR-PAS foram identificados e as intensidades foram

utilizadas para a análise de função discriminante (DFA – *Discriminant Function Analysis*). Esta análise é indicada porque revela um conjunto de variáveis que melhor diferenciam as espécies analisadas (Quinn & Keough, 2002).

A diferença entre os grupos avaliados foi indicada pelo valor de Wilks's Lambda, sendo que valores próximos a zero indicam que os grupos não se sobrepõem, e valores próximos a um indicam elevada sobreposição entre os grupos, com inexistência de diferença significativa entre eles. As análises foram realizadas com o auxílio do programa Systat 12.

Resultados e Discussão

Diferenças interespecíficas entre o perfil químico da cutícula e do veneno de vespas

Polistinae

Na figura 2A são apresentados os espectros médios do perfil químico cuticular das três espécies, de acordo com suas idades relativas e a tabela II mostra os 08 grupos funcionais referentes aos prováveis hidrocarbonetos cuticulares utilizados para as análises estatísticas.

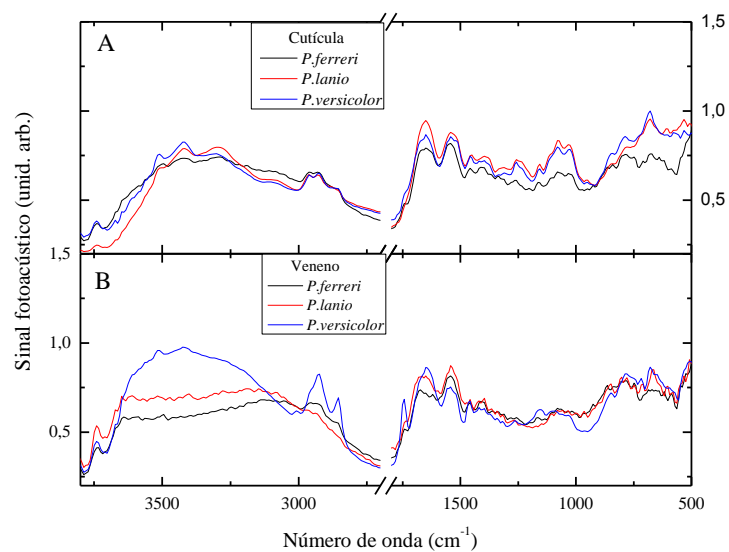


Figura 2. Espectros médios do perfil químico da cutícula (A) e das glândulas de veneno (B) gerados pela técnica de FTIR-PAS e obtidos a partir da leitura dos esternitos (A) e reservatórios de veneno (B) de fêmeas velhas das espécies *Polistes ferreri*, *Polistes lanio* e *Polistes versicolor*.

Tabela. II Relação dos 08 principais picos dos grupos funcionais e seus respectivos modos vibracionais identificados nos espectros médios de absorção no infravermelho e utilizados para as análises estatísticas do perfil químico cuticular das vespas *Polistes ferrerii*, *Polistes lanio* e *Polistes versicolor*.

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

^{a,b,c} indicam os picos significativos para a separação dos grupos de idade de *Polistes ferrerii*, *Polistes lanio* e *Polistes versicolor*, respectivamente.

A análise discriminante demonstra que há diferenças significativas entre o perfil químico cuticular das 3 espécies (Wilks' lambda=0,31, F=14,30 e p<= 0.0000), na qual 4 dos 8 picos foram significativos para separação dos grupos, todos correspondentes a grupos funcionais de prováveis hidrocarbonetos cuticulares (Fig.3A; Tab.II).

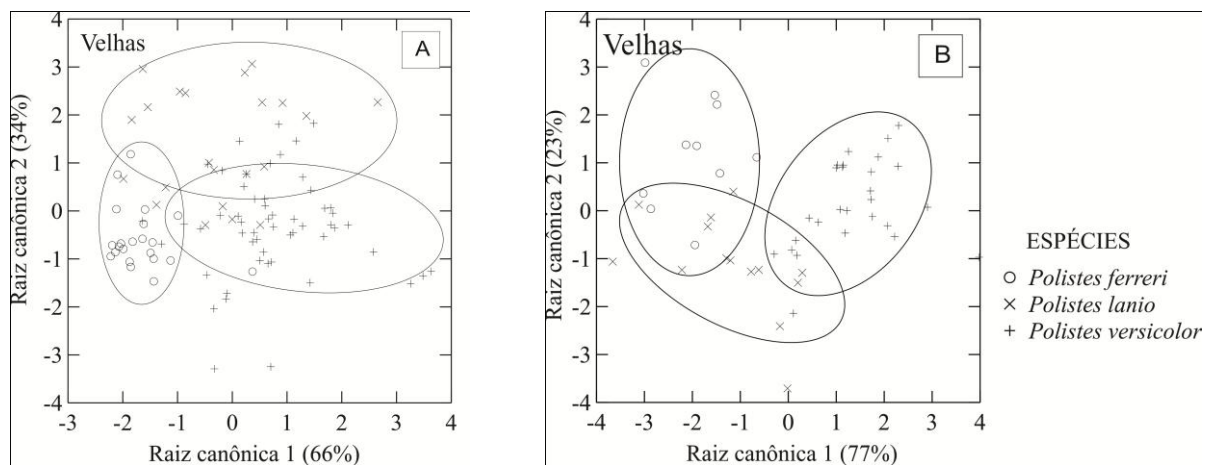


Figura 3. Diagrama de dispersão dos resultados das análises discriminantes mostrando as duas raízes canônicas de diferenciação entre as espécies *Polistes ferreri*, *Polistes lanio* e *Polistes versicolor* de acordo com o perfil químico da cutícula (A) e do veneno (B) de fêmeas velhas.

De fato os perfis químicos cuticulares dessas espécies diferem significativamente, corroborando os resultados encontrados por Antonialli-Junior et al. (2008) que utilizando a mesma técnica (FTIR-PAS) constatou que há diferenças significativas entre os perfis químicos cuticulares de duas espécies de formigas do gênero *Ectatomma*. Trabalhos como os de Kaib et al. (1991) com térmitas, Martin et al. (2008) com formigas e Baracchi et al. (2010) com vespas Stenogastrinae destacam a importância dos HCs para distinção de espécies e sugerem que estes compostos podem, portanto, serem úteis como ferramenta taxonômica (Bagnères & Wicker-Thomas, 2010). Além disso, Kather & Martin (2012) relatam o potencial destes compostos como ferramenta taxonômica complementar, porque são produtos metabólicos estáveis, hereditários e dependentes da espécie, portanto, potencialmente importantes para distinção de espécies.

Quanto ao perfil químico do veneno, de acordo com a inspeção visual da Figura 2(B) é possível perceber diferenças entre os espectros médios dos seus perfis químicos, inclusive, de acordo com a idade das operárias, nas três espécies. Na tabela III estão apresentados os 15 grupos funcionais referentes a possíveis hidrocarbonetos, aminas e amidas utilizados para as análises estatísticas (Bernardi et al., 2014).

Tabela. III Relação dos 15 principais picos dos grupos funcionais e seus respectivos modos de vibração selecionados nos espectros do veneno e utilizados para as análises estatísticas.

Pico	Número de Ondas (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Modo Vibracional
1 ^a	1041	C-H	Dobramento no plano
2 ^{a,c}	1079	C-H	Dobramento no plano
3 ^{b,c}	1110	C-H	Dobramento no plano
4 ^{a,b}	1157	C-H	Dobramento no plano
5 ^c	1241	CH ₃ -CO	Estiramento simétrico
6 ^{a,b}	1396	O-CH ₂	Torção fora do plano
7 ^c	1457	O-CH ₂	Tesoura
8 ^{a,c}	1542	NH e/ou CN (AMIDA II)	Torção no plano e/ou Estiramento assimétrico
9 ^{a,b,c}	1650	C=N (AMIDA I)	Estiramento
10 ^b	2877	CH ₃	Estiramento simétrico
11 ^c	2931	CH ₂	Estiramento assimétrico
12 ^{a,b}	2962	CH ₃	Estiramento assimétrico

13 ^{a,b,c}	3093	N-H	Flexão harmônica
14 ^{a,b}	3293	NH	Estiramento
15	3425	OH	Estiramento

^a picos significativos para a separação dos grupos de *P. ferreri*; ^b picos significativos para a separação dos grupos de *P. lanio* e ^c picos significativos para a separação dos grupos de *P. versicolor*.

De fato, a análise estatística aponta diferenças significativas entre os perfis químicos do veneno das 3 espécies (Wilks' lambda=0,18; F=6,96; p< 0,001). Dos 15 picos de absorção utilizados, 8 foram importantes para a separação dos grupos (Fig. 3B; Tab.III), sendo um dos picos referente a amida, componente que pode estar relacionado a dieta das colônias.

Bruschini et al. (2006b) analisando a composição do veneno de 5 espécies do gênero *Polistes* também encontraram diferenças significativas entre elas. O veneno de *Polistes* tem composição complexa, exercendo várias funções na organização social da colônia e, além de atuar na função de captura de presas e defesa, também possui um papel importante na comunicação química entre os indivíduos, sendo característico de cada espécie (Turillazzi, 2006). Além disso, diante destes resultados, pode-se inferir que o perfil químico do veneno também pode ser utilizado como ferramenta taxonômica para auxiliar em estudos taxonômicos e biogeográficos, uma vez que os componentes genéticos são determinantes na composição de veneno (Menezes et al., 2006).

Diferenças intraespecíficas no perfil químico da cutícula e do veneno de *Polistes versicolor*

Os espectros de absorção do perfil químico da cutícula das fêmeas de colônias de *P. versicolor* nidificadas em diferentes locais e ambientes são diferentes visualmente e significativamente diferentes de acordo com a análise discriminante (Wilks' lambda=0,31, F=14,30 e $p<0,000$; Fig.4(A) e Fig.5(A), sendo 4 picos de absorção, dos 8 selecionados os mais significativos para a separação dos grupos (Tab.II).

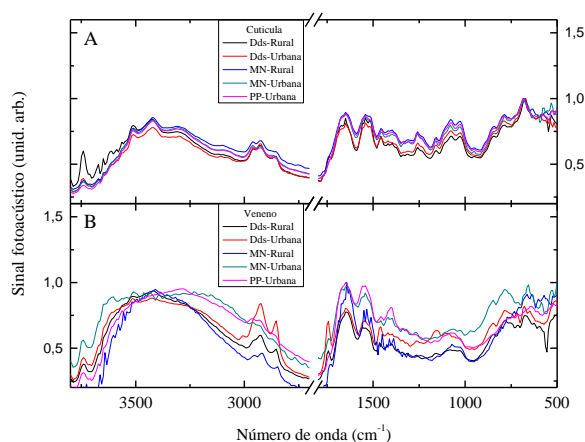


Figura 4. Espectros de absorção no infravermelho médio obtidos por FTIR-PAS da cutícula (A) e da glândula de veneno (B) da vespa *Polistes versicolor*, de colônias nidificadas em diferentes ambientes.

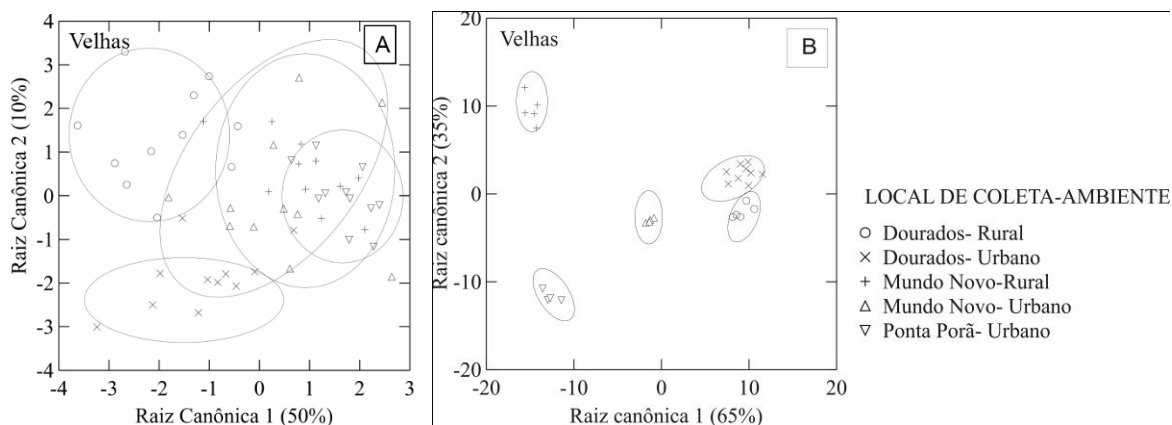


Figura 5. Diagrama de dispersão dos resultados das análises discriminantes mostrando as duas raízes canônicas de diferenciação entre os ambientes de coleta para a espécie *Polistes versicolor* de acordo com o perfil químico da cutícula (A) e do veneno (B) de fêmeas velhas.

Os perfis químicos do veneno também são significativamente diferentes (Wilks' $\lambda=0,00$, $F=28,12$ e $p \leq 0,0000$; Fig.4(B); 5(B), sendo que dos 15 picos de absorção selecionados, 10 foram mais importantes para a separação dos grupos (Tab. III). Comparando os resultados, parece haver menor sobreposição entre os grupos referentes ao perfil químico do veneno comparado ao do perfil químico da cutícula. (Fig. 5A e 5B).

Os picos 1542 e 1650 cm^{-1} , referentes à grupos funcionais que podem ser contidos na amina e amida, respectivamente que podem estar relacionados à variação de dieta de colônias nidificadas em diferentes ambientes, uma vez que os resultados mostraram que a composição do veneno destas espécies variou de acordo com o ambiente em que as colônias estavam nidificadas. A influência da dieta sob o perfil químico do veneno também já foi relatada por Uçkan et al. (2006) na vespa endoparasita *Pimpla turionellae* (Fabricius).

Além disto, estes resultados também corroboram estudos com outros animais peçonhentos, tais como formigas (Cologna et al., 2013), escorpiões (Badhe et al., 2006; Abdel-

Rahaman et al., 2009) e serpentes (Tsai et al., 2004), os quais encontraram variações no perfil químico do veneno entre diferentes populações e os autores sugerem que estas variações provêm de componentes exógenos, principalmente dos recursos alimentares disponíveis.

Por outro lado, as similaridades e ou diferenças, tanto do perfil químico cuticular quanto do veneno, podem estar relacionadas às distâncias geográficas entre as colônias.

Cologna et al. (2013) observaram em seu estudo com a formiga *Dinoponera quadriceps* (Kempf) que venenos de indivíduos coletados em áreas mais próximas são mais semelhantes do que aqueles de regiões mais distantes. Neste caso, provavelmente não só pelos fatores exógenos mais também pela maior relação de parentesco entre colônias mais próximas.

Comportamento do perfil químico da cutícula e do veneno de acordo com a idade

Somente pela inspeção visual dos espectros dos esternitos (Fig. 6) não é possível detectar diferenças nítidas entre fêmeas jovens, intermediárias e velhas. De fato, as análises estatísticas comprovam que estas diferenças não são significativas. Para análise do perfil químico cuticular da espécie *P. ferrerii* (Wilk's Lambda=0,49, F=7,77 e $p<0,001$) a análise discriminante demonstra que apesar do valor de P indicar diferenças significativas o valor de Wilk's Lambda é relativamente alto e há muita sobreposição entre os grupos. Resultados semelhantes foram encontrados para o perfil químico cuticular de *P. lanio* (Wilk's Lambda=0,59, F=3,99 e $p<0,001$) e *P. versicolor* (Wilk's Lambda=0,80, F=3,21 e $p<0,015$). Portanto, pode-se afirmar que não há diferenças significativas entre o perfil químico cuticular de acordo com a idade relativa nas três espécies de *Polistes* analisadas, permitindo que qualquer idade ou todas em conjunto possam ser utilizadas para outras análises, como diferenciação entre espécies e ambientes.

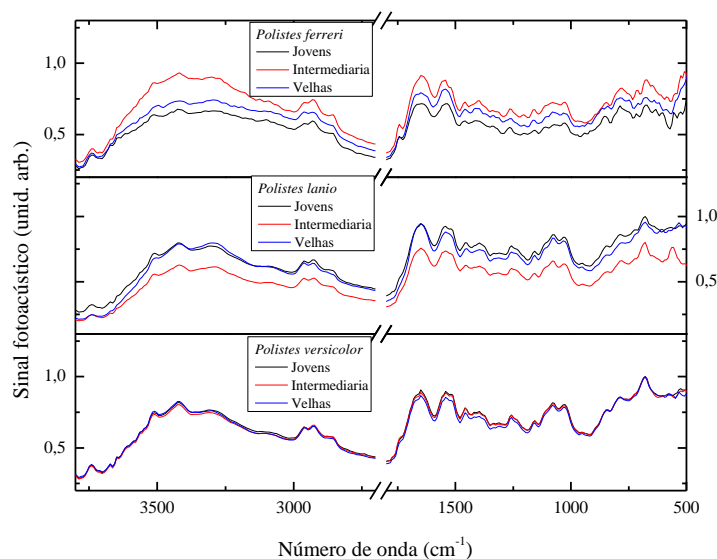


Figura 6. Espectros médios do perfil químico da cutícula de fêmeas gerados pela técnica de FTIR-PAS e obtidos a partir da leitura dos esternitos das espécies *Polistes ferreri*, *Polistes lanio* e *Polistes versicolor*, de acordo com as idades relativas.

Estes resultados diferem dos encontrados por Cuvillier-Hot et al. (2001) que analisando os perfis químicos de formigas do gênero *Diacamma* por cromatografia gasosa, observaram diferenças significativas entre indivíduos de diferentes idades, como já havia sido descrito por Kaib et al. (2000) em um estudo com *Myrmicaria eumenoides* (Gerstaecker). Resultados semelhantes também foram encontrados em *Musca domestica* (Linnaeus) por Butler et al. (2009).

Por outro lado, a ausência de diferenças encontradas, de acordo com a idade encontradas aqui pode ser devido ao tipo de técnica utilizada, uma vez que todos os outros trabalhos mencionados acima utilizaram técnicas cromatográficas que permitem qualificar e quantificar os compostos químicos cuticulares, diferentemente da técnica de FTIR-PAS que identifica

grupos funcionais. Porém, deve-se ressaltar que a confiabilidade desta técnica já foi confirmada em vários trabalhos (Antonialli-Junior et al., 2007, 2008; Neves et al., 2013; Torres et al., 2014; Soares et al., 2014).

Já para o perfil químico do veneno, de acordo com a inspeção visual da Figura 7 é possível perceber diferenças entre os espectros médios dos perfis químicos do veneno, de acordo com a idade, nas três espécies estudadas. De fato, estas diferenças observadas nos espectros foram confirmadas pelas análises discriminantes (Fig. 8 A, B, C). Em amostras de *P. ferreri* a análise discriminante mostrou que existe diferença significativa entre a composição química dos 3 grupos de idades das fêmeas (Wilk's Lambda=0,168, F=3,36 e $p<0,001$), no qual 9 dentre os 15 picos foram significativos para a separação das idades (Tab. III). Os resultados revelam que a primeira raiz canônica explica 79,5% e a segunda 20,5% desta distinção (Fig. 8A).

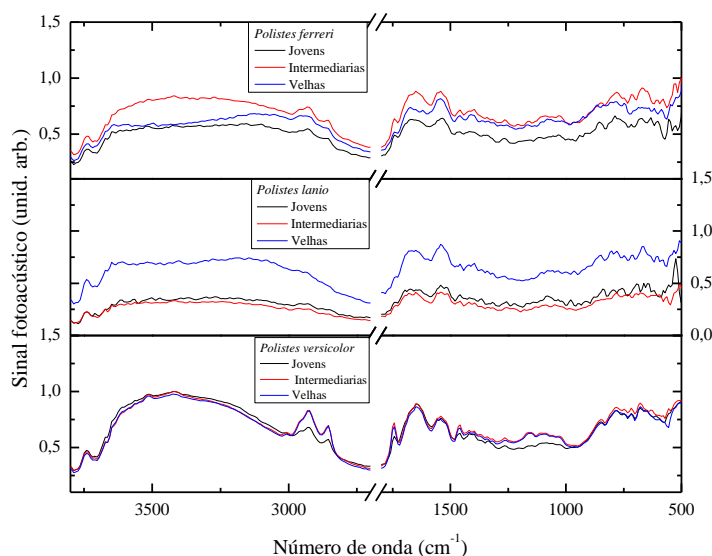


Figura 7. Espectros médios do perfil químico das glândulas de veneno de fêmeas gerados pela técnica de FTIR-PAS das espécies *Polistes ferreri*, *Polistes lanio* e *Polistes versicolor*, de acordo com as idades relativas.

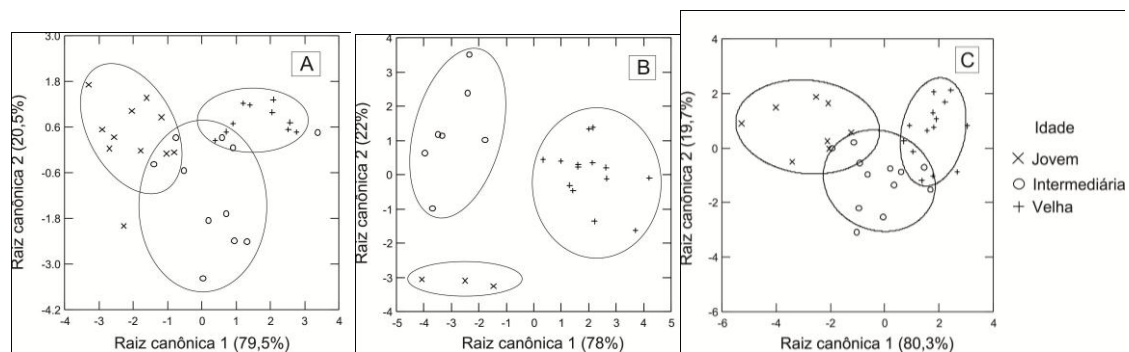


Figura 8. Gráficos de dispersão de acordo com o perfil químico do veneno de fêmeas de 3 categorias diferentes de idade das espécies *P. ferrerii* (A), *P. lanio* (B) e *P. versicolor* (C).

O mesmo resultado foi encontrado para *P. lanio* (Wilk's Lambda=0,043; F=6,68; $p<0,001$), no qual 8 dos 15 picos foram significativos para a separação das idades. A primeira raiz canônica explicou 78% do agrupamento das amostras e a segunda raiz explicou 22% do resultado (Fig. 8B). E por fim, o mesmo ocorreu com *P. versicolor* (Wilk's Lambda=0,118; F=5,73; $p<0,001$) que dos 15 picos utilizados para a análise estatística 8 foram significativos para a distinção dos grupos, no qual a primeira raiz canônica explica 80,3% do resultado e a segunda explicou 19,7% destas diferenças (Fig. 8C; Tab. III).

Os picos 1650 e 3093 cm^{-1} correspondentes aos grupos funcionais Amida e NH, respectivamente, foram os mais importantes para a separação dos grupos nas três espécies avaliadas. Já o pico 1041 cm^{-1} (C-H) foi significativo somente para *P. ferrerii*, o 2877 cm^{-1} (CH_3) para *P. lanio* e os picos 1457 e 3293 cm^{-1} (O-CH_2 e NH) para *P. versicolor*. Dessa forma, determinados picos de absorção, referentes aos grupos funcionais correspondentes podem servir como marcadores para as espécies (Tab. III). Portanto, como as análises demonstram que há diferenças significativas entre o perfil químico do veneno de fêmeas de acordo com sua idade

pode-se inferir que estas mudanças estão relacionadas à função que a fêmea exerce na colônia, uma vez que os trabalhos de Giannotti (1997), Zara e Balestieri (2000) e Torres et al. (2012) com repertórios comportamentais de vespas do gênero *Polistes* comprovam que há um polietismo temporal relativamente claro na casta operária nas espécies estudadas.

Nestes trabalhos os autores relatam que fêmeas jovens desenvolvem mais frequentemente tarefas intranidais, enquanto fêmeas mais velhas atuam na defesa da colônia ou passam mais tempo fora do ninho forrageando. Por consequência, é possível que fêmeas que ainda estão realizando tarefas dentro do ninho não tenham a composição do veneno completamente definida. Neste sentido, o trabalho de Uçkan et al. (2006) com a vespa endoparasita *Pimpla turionellae*, relata que há mudanças gradativas no perfil químico do veneno à medida que a fêmea envelhece e estas mudanças provavelmente estão relacionadas a alteração na realização de determinadas tarefas ao longo de sua ontogenia comportamental. No caso das vespas sociais, as fêmeas mais velhas dedicam-se relativamente mais tempo à atividade forrageadora e defesa da colônia ficando, por exemplo, mais expostas a predadores (Giannotti, 1997; Zara e Balestieri, 2000; Torres et al., 2012).

Os resultados deste estudo demonstram diferenças significativas entre as três espécies de *Polistes*, seja pelo perfil químico da cutícula ou do veneno, demonstrando a importância do componente genético para a composição desses perfis químicos. Portanto, os resultados indicam que tanto componentes genéticos quanto exógenos, são importantes para a composição destes perfis.

Tanto o perfil químico cuticular quanto o veneno de *P. vesicolor* apresentaram diferenças significativas, de acordo com o ambiente de nidificação, provavelmente por conta das diferentes fontes de recursos alimentares, como já relatados em outros trabalhos.

O perfil químico cuticular das fêmeas ao longo da idade varia pouco, enquanto o perfil químico do veneno apresentou diferença significativa de acordo com a idade nas 3 espécies analisadas. Estas mudanças provavelmente ocorrem por conta das mudanças de execução de tarefas de acordo com a ontogenia comportamental, na qual fêmeas mais velhas estão envolvidas mais efetivamente na atividade de forrageamento e defesa da colônia.

Referências Bibliográficas

Abdel-Rahman, M.A. (2008). Intraspecific diversity of scorpions venom and its implication in the pathophysiological effects. *Journal Venomous of Animals Toxins and Tropical Diseases*, 14(1):191-192.

Abdel-Rahman, M.A., Omran, M.A.A., Abdel-Nabi, I.M., Ueda, H. & Mcvean, A. (2009). Intraspecific variation in the Egyptian scorpion *Scorpio maurus palmatus* venom collected from different biotopes. *Toxicon*, 53:349–359.

Antonialli-Junior, W.F., Lima, S.M., Andrade, L.H.C. & Suárez, Y.R. (2007). Comparative study of the cuticular hydrocarbon in queens, workers and males of *Ectatomma vizottoi* (Hymenoptera, Formicidae) by Fourier transform-infrared photoacoustic spectroscopy, *Genetics and Molecular Research*, 6:492–499.

Antonialli-Junior, W.F., Andrade, S.M., Suárez, Y.R. & Lima, S.M. (2008). Intra- and interspecific variation of cuticular hydrocarbon composition in two *Ectatomma* species (Hymenoptera: Formicidae) based on Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. *Genetics and Molecular Research*, 7:559–566.

Badhe, R.V., Thomas, A.B., Harer, S.L., Deshpande, A.D., Salvi, N. & Waghmare, A. (2006). Intraspecific variation in protein of red scorpion (*Mesobuthus tamulus*, Coconsis, Pocock) venoms from Western and Southern India. *Journal Venomous Animals Toxins and Tropical Diseases*, 12(4):612–619.

Bagnères, A.G. & Wicker-Thomas, C. (2010). Chemical taxonomy with hydrocarbons. In: Blomquist G.J. & Bagnères A.G. (Eds.), pp. 121–162. *Insect hydrocarbons, Biology, biochemistry, and chemical ecology*. New York, Cambridge University Press, 506p.

Baracchi, D., Cusseau, G., Pradella, D. & Turillazzi, S. (2010). Defence reactions of *Apis mellifera* ligustica against attacks from the European hornet *Vespa crabro*. *Ethology and Ecology Evolution*, 22(3):281-294.

Barraviera, B. (1994). *Venenos animais – uma visão integrada*. Rio de Janeiro: Publicações Científicas.

Beleboni, R.O., Pizzo, A.B., Fontana, A.C., Carolino, R.O.G., Coutinho-Netto, J. & Dos Santos, W.F. (2004). Spider and wasp neurotoxins: pharmacological and biochemical aspects. *European Journal of Pharmacology*, 493(1-3):1–17.

Bernardi, R.C., Firmino, E.L.B., Pereira, M.C., Andrade, L.H.C., Cardoso, C.A.L., Suarez, Y.R., Antonialli-Junior W.F. & Lima, S.M. (2014) The Role of Diet in The Cuticular Chemical Composition of *Ectatomma brunneum*: FTIR-PAS as a Potential Tool. *Genetics and Molecular Research*, 13(4):10035-10048.

Blomquist, G.J. & Bagnères, A.G. (2010). Introduction: history and overview of insect hydrocarbons, pp. 3–18, in G. J. Blomquist and A.-G. Bagnères (eds.). *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology*. Cambridge University Press, New York.

Bougis, P.E., Rochat, & Smith, L.A (1989). Precursors of *Androctonus australis* scorpion neurotoxins. *Journal of Biology and Chemistry*, 264:19259-19265.

Bruschini, C., Cervo, R. & Turillazzi, S. (2006a). Evidence of alarm pheromones in the venom of *Polistes dominulus* workers (Hymenoptera: Vespidae). *Physiology and Entomology*, 31:286–293.

Bruschini, C., Dani, F.R., Pieraccini, G., Guarna, F. & Turillazzi, S. (2006b). Volatiles from the venom of five species of paper wasps (*Polistes dominulus*, *P. gallicus*, *P. nimphus*, *P. sulcifer* and *P. olivaceus*). *Toxicon*, 47:812–825.

Bruschini, C., Cervo, R., Dani, F.R. & Turillazzi, S. (2007). Can venom volatile be a taxonomic tool for *Polistes* wasps (Hymenoptera, Vespidae). *Journal of Zoology and Systematics Evolution Research*, 45:202–205.

Butler, S.M, Moon, R.D., Hinkle, N.C., Millar, J.G., Mcelfresh, J.S. & Mullens, B.A. (2009). Characterization of age and cuticular hydrocarbon variation in mating pairs of house fly, *Musca domestica*, collected in the field. *Medical Veterinary Entomology*, 23(4):426–442. Doi:10.1111/j.1365-2915.2009.00831.x

Carpenter, J.M. 1981 (1982). The phylogenetic relationships and natural classification of the Vespoidea (Hymenoptera). *Systematics Entomology*, 7:11–38.

Carpenter, J.M. & Marques, O.M. (2001). Contribuição ao estudo dos vespídeos do Brasil (Insecta; Hymenoptera; Vespoidea, Vespidae). Universidade Federal da Bahia. Série publicações digitais, v. 02.

Cologna, C.T., Cardoso, J.S., Jourdan, E., Degueudre, M., Upert, G., Gilles, N., Uetanabaro, A.P.T., Neto, E.M. C., Trovatti, P., Pauw, E. & Quinton, L. (2013). Peptidomic comparison and characterization of the major components of the venom of the giant ant *Dinoponera quadriceps* collected in four diferente areas of Brazil. *Journal of Proteomics*, 94:413-422.

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

Daltry, C.J., Wuster, W. & Thorpe, S.R. (1997). The role of ecology in determining venom variation in the Malayan pitviper, *Calloselasma rhodostoma*. *Symposia of the Zoological Society of London*, 70:155–171.

Espelie, K.E., Butz, V.M. & Dietz, A. (1990). Dextydecanoate: A major component of the tergite glands of honeybee queens (*Apis mellifera* L.). *Journal of Apicultural Research*, 29:15–19.

Ferreira-Caliman, M.J., F.S. Nascimento, I.C.C., Turatti, Mateus, S., Lopes, N.P. & Zucchi, R. (2010). The cuticular hydrocarbons profiles in the stingless bee *Melipona marginata* reflect task-related differences. *Journal of Insect Physiology*, 56: 800–804.

Forsyth, A.B. (1978). Studies in the behavioral ecology of polygynous social wasps. PhD dissertation, Harvard University, Cambridge, Massachusetts, 226p.

Galvão, C.E.S., Leo, K., Iwai, Lucilene, D., Santos, Mendes, M.A., Palma, M.S., Castro, F.F.M., Neto, E.C. & Kalil, J. (2005). Proteomic analysis of mayor antigenic proteins from *Agelaia pallipes* venom. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, 28(1).

Gamboa, G.J., Grudzien, T.A., Espelie, K.E., & Bura, E.A. (1996). Kin recognition pheromones in social wasps: combining chemical and behavioural evidence. *Animal Behaviour*, 51:625–629.

Giannotti, E. (1997). Biology of the wasp *Polistes* (*Epicnemius*) *cinerascens* Saussure (Hymenoptera: Vespidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 26:61–67.

Greene, R.V., Gordon S.H., Jackson M.A. & Bennett G.A. (1992). Detection of fungal contamination in corn: potential of PAS-FTIR and DRS. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 40:1144–1149.

Grimaldi, D. & Engel, M.S. (2005). 12 Antliophora: Scorpionflies, Fleas, and True Flies, p. 468–480. In: Grimaldi, D. & M. S. Engel (eds.). *Evolution of the insects*. Cambridge University Press, xiii+755 p

Izzo, A., Wells, M., Huang, Z. & Tibbetts, E. (2010). Cuticular hydrocarbons correlate with fertility, not dominance, in a paper wasp, *Polistes dominulus*. Behaviour Ecology and Sociobiology, 64:857–874.

Jeanne, R.L. (1972). Social biology of the Neotropical wasp *Mischocyttarus drewseni*. Bulletin of Museum Comparative of Zoology, 144:63–150.

Kaib, M., Brandl, R. & Bagine, R.K.N. (1991). Cuticular hydrocarbons among the eight species of the *Drosophila melanogaster* sub-group. Evolution, 41:249-302.

Kaib, M., B. Eisermann, E. Schoeters, J. Billen, S. Franke & Francke, W. (2000). Task related variation of postpharyngeal and cuticular hydrocarbon compositions in the ant *Myrmicaria eumenoides*. Journal of Comparative Physiology, 186A:939–948.

Kather, R. & Martin, S.J. (2012). Cuticular hydrocarbon profiles as a taxonomic tool: advantages, limitations and technical aspects. Physiology and Entomology, 37:25-32. Doi: 10.1111/j.1365-3032.2011.00826.x

Khidr, S.K., Mayes, S. & Hardy, I.C.W. (2013). Primary and secondary sex ratios in a gregarious parasitoid with local mate competition. Behaviour and Ecology, 24(2):435–443.

Kolarich, D., Loos, A., Léonard, R., Mach, L., Marzban, G., Hemmer, W. & Altmann, F. (2007). A proteomic study of the major allergens from yellow jacket venoms. Proteomics, 7:1615–1623.

Leal, W.S. (2005). Pheromone reception. Topics and Current Chemistry, 240:1–36.

Macalintal, E. A. & Starr, C.K. (1996). Comparative morphology of the stinger in the social wasp genus *Ropalidia* (Hymenoptera: Vespidae). Memoirs of the Entomological Society of Washington, 17:108-150.

Manzoli-Palma, M.S.C. & Gobbi, N. (1997). Muscles-bearing of sting apparatus in social wasp and their relationship with the autotomy (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae). *Journal of Advanced Zoology*, 18:1-6.

Martin, S.J., Helantera, H. & Drijfhout, F.P. (2008). Evolution of species-specific cuticular hydrocarbon patterns in *Formica* ants. *Biological Journal of Linnaeus Society*, 95: 131–140. Doi:10.1111/j.1095-8312.2008.01038.x.

Menezes, M.C., Furtado, M.F., Travaglia-Cardoso, S.R., Camargo, A.C.M. & Serrano, S.M.T. (2006). Sex-based individual variation of snake venom proteome among eighteen *Bothrops jararaca* siblings. *Toxicon*, 47:304–312.

Moneti, G., Dani, F.R., Pieraccini, G. & Turillazzi, S. (1997). Solid-phase microextraction of insect epicuticular hydrocarbons for gas chromatographic/mass spectrometric analysis. *Rapid Communications of Mass Spectrometry*, 11:857–862.

Mortari, M.R., Cunha, A.O.S., Oliveira, L., Vieira, E.B., Gelfuso, E.A., Coutinho-Netto, J. & dos Santos, W.F. (2007). Anticonvulsant and behavioural effects of the denatured venom of the social wasp *Polybia occidentalis* (Polistinae, Vespidae). *Basic & Clinical Pharmacology and Toxicology*, 97(5):289–95.

Naug, D. & Gadagkar, R. (1998). The role of age in temporal polyethism in a primitively eusocial wasp. *Behaviour and Ecology Sociobiology*, 42:37-47. Doi:10.1007/s002650050409.JSTOR4601416

Neves, E.F., Andrade, L.H.A., Suárez, Y.R., Lima, S.M. & Antonialli-Junior, W.F. (2012). Age-related changes in the surface pheromones of the wasp *Mischocyttarus consimilis* (Hymenoptera: Vespidae). *Genetics and Molecular Research*, 11(3):1891–1898.

Neves, E.F., Montagna, T.S., Andrade, L.H.C., Suárez, Y.R., Lima, S.M. & Antonialli-Junior, W.F. (2013). Social parasitism and dynamics of cuticular hydrocarbons in paper wasps of the genus *Mischocyttarus*. *Journal of Kansas Entomological Society*, 86(1):69–77.

Owen, D. (1978). The concept of influence and its use in structuring complex decision problems. Ph.D. thesis, Department of Engineering-Economic Systems, Stanford University.

Owen, A.B. (1990). Empirical likelihood confidence regions. *Annales Statistics*, 18:90–120.

Piek, T. (1991). Neurotoxic kinins from wasp and ant venoms. *Toxicon*, 29(2):139–149.

Provost, E., Blight, O., Tirard, A. & Renucci, M. (2008). Hydrocarbons and insects' social physiology. In: Maes R.P. (Ed.). pp. 19–72. *Insect Physiology: new research*. Nova Science Publishers.

Quinn, G.P. & Keough, M.J. (2002). *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press, Cambridge, 530p.

Richards, O.W. (1971). The biology of social wasps (Hymenoptera, Vespidae). *Biological Review*, 46:483–528.

Schoeters, E. & Billen, J. (1995). Morphology and ultrastructure of a secretory region enclosed by the venom reservoir in social wasps (Insecta, Hymenoptera). *Zoomorphology*, 115(2):63–71.

Seeley, T.D. (1982). Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behaviour Ecology and Sociobiology*, 11(4):287-293.

Silverstein, R.M. & Webster, F.X. (2000). *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 6ª ed. Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, 506p.

Skoog, D.A., Holler, F.J. & Nieman, T.A. (2002). Princípios de Análise Instrumental. 5ª ed. Editora Bookman, Porto Alegre, 836p.

Smith, B.C. (1999). Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach. CRC Press, Boca Raton.

Soares, E.R.P., Torres, V. de O. & Antonialli-Junior, W.F. (2014). Reproductive Status of Females in the Eusocial Wasp *Polistes ferreri* Saussure (Hymenoptera:Vespidae). Neotropical Entomology, 43:500-508.

Souza, B.M., Marques, M.R., Tomazela, D.M., Eberlin, M.N., Mendes, M.A. & Palma, M.S. (2004). Mass spectrometric characterization of two novel inflammatory peptides from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 18:1095–102.

Torres, V.O., Montagna, T.S., Raizer, J. & Antonialli-Junior, W.F. (2012). Division of labor in colonies of the eusocial wasp, *Mischocyttarus consimilis*. Journal of Insect Science, 12(21):1-15.

Torres, V.O., Sguarizi-Antonio, D., Lima, S.M., Andrade, L.H.C. & Antonialli-Junior, W.F. (2014). Reproductive status of the social wasp *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae), Sociobiology, 61(2):218-224.

Tsai, H.I., Wang, Y.M., Chen, Y.H., Tsai, T.S. & Tu, M.C. (2004). Venom phospholipases A2 of bamboo viper (*Trimeresurus stejnegeri*): molecular characterization, geographic variations and evidence of multiple ancestries. Biochemical Journal, 377:215–223.

Turillazzi, S., Mastrobuoni, G., Dani, F.R., Moneti, G., Pieraccini, G., La Marca, G., Bartolucci, G., Perito, B., Lambardi, D., Cavallini, V. & Dapporto, L. (2006). Dominulin A and B: two new antibacterial peptides identified on the cuticle and in the venom of the social paper

wasp *Polistes dominulus* using maldi-tof, maldi-tof/tof, and ESI-ion trap. Journal of American Society Mass Spectrometry, 17:376–83.

Uçkan, F., Ergin, E., Rivers, D.B. & Gençer, N. (2006). Age and diet influence the composition of venom from the endoparasitic wasp *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). Archives of Insects Biochemical and Physiology, 63:177-187.

West-Eberhard, M.J. (1973). Monogyny in polygynous social wasps. Proceedings of VII Congress of I.U.S.S.I. London, 396–403.

Wilson, E.O. (1971). The insects societies. Cambridge, Belknap Press of Harvard University Press. 548p.

Ying, H., Zhang, Y. & Cheng, J. (2014). Dynamic urea bond for the design of reversible and self-healing polymers. Nature Communities, 5:3218.

Zara, F.J. & Balestieri, J.B.P. (2000). Behavioural catalogue of *Polistes versicolor* Olivier (Vespidae: Polistinae) post-emergence colonies. Naturalia, 25:301-319.

APÊNDICE

Os capítulos desta dissertação estão formatados conforme as normas da revista **Sociobiology**, para a qual pretendemos enviar os manuscritos provenientes da mesma. No seguinte endereço eletrônico estão disponíveis as normas de formatação <http://periodicos.uefs.br/ojs/index.php/sociobiology/about/submissions#authorGuidelines>

A formatação se deu conforme as seguintes regras, restando somente a tradução para o inglês para ser feita posteriormente:

SECTION I - Manuscript preparation

1- Manuscript file formatting

All manuscripts submitted to Sociobiology must be written in English, with clarity and readability in mind. Manuscripts are subject to editing to ensure conformity to editorial standards and journal style.

- Submit manuscript as an MS Word or RTF file with a page size Letter, 8.5 x 11".
- Use continuous line numbering on all pages of your manuscript.
- Type all as double-spaced, with 1-inch margins, and do not right justify text.
- Use the font Times (New) Roman with a size of 12 point.
- Left-justify the title, author line, affiliation lines, subheadings, text, and References Cited.
- Insert tabs, not spaces, for paragraph indents.

- Use italicization only to indicate scientific names (including viruses), symbols or variables, and words that are defined.
- Use quotation marks for quoted material only.
- Use American English spelling throughout and follow Merriam-Webster's New Collegiate Dictionary, 10th ed., for guidance on spelling.
- Number pages consecutively, beginning with the title page.
- Lines in the manuscript must be numbered.
- Begin each of the following on a separate page and arrange in the following order: title page, abstract and key words (three to six words), manuscript text, acknowledgments, references cited, footnotes, tables, figure legends, and figures.
- Type all captions on a separate page and put each figure and table on a separate page.
- **Make sure the file size (in Word, Libre Office or TRF format) does not exceed 2MB.** This is the maximum upload file size in the OJS setup. If the manuscript is larger than that due to figures of high resolution, leave only figure legends in the manuscript file. Prepare figures in JPG or GIF format with size up to 2MB and upload individual figures as supplementary files. During the upload of supplementary files, in step 4, name the files with titles corresponding to the number of figures in the manuscript text. Check the option "Present supplementary files to reviewers".

- The sequence to correctly upload files in steps 2 (original article) and 4 (supplementary files) of the electronic submission is to choose the file (OJS will access your File Manager program), to click the Upload button, and then click the button "Save and continue". Upload as many supplementary files as needed repeating this sequence. After you are finished with the uploads, click "Save and continue". You will reach step 5 "Confirmation". Click the button "Finish Submission".

2- Manuscript Preparation Instructions

2.1- Front page

Justify the complete name and the regular and electronic mail addresses of corresponding author on the upper right of the page.

Center-justify the title using capital initials (except for prepositions and articles).

Scientific names in the title must be followed by the author's name (without the year) and by the order and family names in parentheses.

Author(s) name(s) should be center-justified below the title using small capital letters. Only initials of the first and middle names of authors shall be provided, followed by the family names in full. Names of different authors are separated by commas, without the use of "and" or "&" (Examples: RJ GUPTA; LG SIMONS, F NIELSEN, SB KAZINSKY).

Skip one line and list each authors' affiliation identified by call numbers whenever more than one address is listed.

Skip another line and provide a running title, no longer than 60 characters.

2.2 - Page 2 – Abstract

The abstract must be easy to understand and not require reference to the body of the article. Only very important results must be presented in the abstract; it must not contain any abbreviations or statistical details. Type ABSTRACT followed by a hyphen and the text. The abstract must be one-paragraph long and not exceed 250 words. Skip one line and type Keywords. Type three to five keywords separated by commas, preferably ones not present in the title.

2.3 - Main Text

Introduction - This section of the manuscript must clearly contextualize the research problem and state the scientific hypothesis being tested, as well as the research objectives.

Material and Methods - This section must provide enough information for the research to be replicated. Please include the statistical design and, if necessary, the name of the program used for analysis.

Results and Discussion - This section can be grouped or kept as separate sections. In Results, mean values must be followed by the mean standard error and the number of observations. Use two decimals for mean values and for standard errors. Articles for which Analysis of Variance was performed shall present an ANOVA table containing sources of variation, DF, SS, F statistics and P-value.

Conclusions must be stated at the end of discussion.

Acknowledgments - The text must be concise and contain the recognition to people first, and then institutions and/or sponsors.

References - Under the section title, type the references, in alphabetical order, one per paragraph, with no space between them.

- The authors' family names are typed first in full, followed by capital initials, followed by period.
- Use a comma to separate the names of authors.
- Add the reference year after the authors' family name, between parentheses.
- Abbreviate the titles of the bibliographical sources, starting with capital letters. Use journal abbreviations according to the ISI journal abbreviations list <http://www.efm.leeds.ac.uk/~mark/ISIabbr/>
- Please avoid citations of dissertations, theses, and extension materials. Do not cite monographs, partial research reports, or abstracts of papers presented at scientific meetings.
- Whenever possible type the DOI number at the end of the reference. Most articles published in the 2000's have a DOI number.

Examples of reference style:

Book

Hölldobler, B. & Wilson, E.O. (1990). The Ants. Cambridge: Harvard University Press, 732 p

Chapter or article in an edited book

Cushman, J.H. & Addicott, J.F. (1991). Conditional interactions in ant-plant-herbivore mutualisms. In C.R. Huxley & D.F. Cutler (Eds.), *Ant-plant interactions* (pp. 92-103). Oxford: Oxford University Press.

Chapter or article in an edited book, online

Author, A. (year). Title of book. [details about the format if available].

Retrieved from web address or DOI Journal article

Bolton, B. (2011). Catalogue of species-group taxa. <http://gap.entclub.org/contact.html>. (accessed date: 1 March, 2011).

Matsuura, K., Himuro, C., Yokoi, T., Yamamoto, Y., Vargo, E. L. & Keller, L. (2010). Identification of a pheromone regulating caste differentiation in termites. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 107: 12963-12968. doi: 10.1073/pnas.1004675107

- The issue number should be indicated only if each issue of a journal begins on page 1.
- Capitalise only the first letter of the first word of an article title and subtitle, and any proper nouns.
- Capitalise the first letter of every main word in the journal title.
- Include a digital object identifier (DOI) if provided

Journal article, online

Liu, N., Cheng, D.M., Xu, H.H. & Zhang, Z.X. (2011). Behavioral and Lethal Effects of α -terthienyl on the Red Imported Fire Ant (RIFA). Chin. Agri. Sci., 44: 4815-4822. Retrived from: http://211.155.251.135:81/Jwk_zgnykx/EN/Y2011/V44/I23/4815

Group or organisation as author

Organisation Name. (Year). Details of the work as appropriate to a printed or electronic form.

Tables

Tables must be placed separately, one per page, after the References section. Please number tables consecutively with Arabic numbers at the same order they are referred to in the text. Footnotes must have call numbers. Use the word "Table" in full in the text (example: Table 1).

Example of a table title:

Table 1. Frequency of the four types of ovaries within the colonies of *Angiopolibia pallens*.

Figures

Insert the list of figures after the tables. Use the abbreviation "Fig" in the titles and in the text (such as Fig 3). Figures must be in jpg or gif format, according to the following guidelines:

Use JPEG for photographs and images of realistic scenes

Generally speaking, JPEG is superior to GIF for storing full-color or grey-scale images of "realistic" scenes; that means scanned photographs and similar material. Any continuous variation in color, such as occurs in highlighted or shaded areas, will be represented more faithfully and in less space by JPEG than by GIF.

JPEG has a hard time with very sharp edges: a row of pure-black pixels adjacent to a row of pure-white pixels, for example. Sharp edges tend to come out blurred unless you use a very high quality setting. Edges this sharp are rare in scanned photographs, but are fairly common in graphics files: borders, overlaid text, etc. The blurriness is particularly objectionable with text that's only a few pixels high. If you have a graphics with a lot of small-size overlaid text, don't JPEG it, save it as GIF.

Use GIF for black and white, simple line and text graphics.

GIF is the abbreviation for Graphics Interchange Format. The images saved in this format lose a lot of color information by being reduced to 256 colors (8 bits per pixel). That makes it not such a good format for photographs and large images but ideal for storing graphics with a limited number of colors such as line and bar graphics, simple drawings, logos, text, diagrams, small images or pictures in greyscale.

. Use original or high resolution figures (with a minimum resolution of 300 dpi). Whenever possible, graphs shall be prepared in MS Excell or a similar/compatible open source program.

Example of a figure title:

Fig 1. Nest of *Angiopolibia pallens*. A – General view of a nest. B – The combs suspended from those above by pedicels. The large arrow indicates the main pedicel, the small one indicates an auxiliary pedicel.

3- In-text Citations

Scientific names

Write the scientific names in full, followed by the author's family name, when they are first mentioned in the Abstract and in the body of the text, e.g.: *Polistes canadensis* (L.). Use the abbreviated generic name (e.g.: *P. canadensis*) in the rest of the manuscript, except in tables and figures, where the species name shall be typed in full.

One author

When you refer to a single author, include the author's family name and year of publication, using one of the forms shown here.

Ginsberg (2005) argues that local diversity of bees is driven by species selection from a regional diversity pool. or

Local diversity of bees is driven by species selection from a regional diversity pool (Ginsberg, 2005).

Multiple authors

For two authors, include the family names of both authors and year.

According to Smith and Velasquez (2009) chaparrals are a source of endemism for ants in the Venezuelan Andes. or

Chaparrals are a source of endemism for ants in the Venezuelan Andes (Smith & Velazquez, 2009).

Use 'and' when family names are outside parentheses; use '&' when family names are inside parentheses.

In the case of three or more authors, cite first authors' family name, plus 'et al.' and the year.

Multiple references

If more than one reference has to be cited, follow the chronological order of publication, separated with semicolons (for example: Xia & Liu, 1998; Saravanah, 2003; Balestreri, 2006; Ustachenko et al., 2010). Use 'and' when family names are outside parentheses; use '&' when family names are inside parentheses.

Secondary source

Some citations refer to one author (secondary) who cites another (primary).

Yamamoto (as cited in Harvey, 2010) disagrees with the taxonomic review of the genus *Camponotus* presented by Gold (2008).

Note: The entry in the reference list is under Harvey.

Article or chapter in an edited book

If a chapter or article written by a contributor author to an edited book has to be cited, acknowledge the author of the chapter or article. This author is cited in text (that is, in the body of the paper) in the same way as for one or more authors.

Group or organisation as author

Whenever the author is a government agency, association, corporate body or the like, which has a familiar or easily understandable acronym, it is cited as follows:

The reduction of industry polluting particles in Cleveland resulted in the increase of bee species richness in park areas in the 1990's (Environmental Protection Agency [EPA], 2006).

Note: The entry in the reference list is under Environmental Protection Agency.

Personal communication

Personal communications are understood as letters, e-mails, personal interviews, telephone conversations and the like. They must be in text only and are not included in a reference list.

J. Ahmed (personal communication, May 11, 2010) indicated ...

... (L. Stainer, Senior Researcher, Social Insects Study Centre, personal communication, June 4, 2009)

4 - Scientific Notes

Manuscripts that report new geographic occurrences, trophic interactions or new methods for the study of social insects can be submitted. But records of species or host associations to new localities in geographical regions that they are already known are no longer accepted for

publication. Records of species or associations known to a geographical region may be considered only if including new ecological zones.

Distribution records must not be based on political borders, but on ecosystems.

Manuscript requirements are the same as for scientific articles. However, Introduction, Material and Methods, and Results and Discussion are written without subtitles. The abstract must have up to 100 words and the text no longer than 1,000 words. Figures or tables can be included if highly necessary, but not exceed the limit of two figures or tables per note.

5- Reviews

Extensive interpretative or evaluative articles on current topics related to the biology of social insects, can be published upon invitation by the Associate Editors. The Editorial Board is not responsible for the opinions expressed in reviews.