



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

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ESTÁGIOS DE
DESENVOLVIMENTO, NINHO E VENENO DE**
Protopolybia exigua

Élica Renata Soares da Silva

DOURADOS-MS

Março/2015





**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ESTÁGIOS DE
DESENVOLVIMENTO, NINHO E VENENO DE**
Protopolybia exigua

Élica Renata Soares da Silva (Acadêmica)

Profa. Dra. Claudia Andrea Lima Cardoso (Orientadora)

Profa. Dra. Margareth Batistote (Coorientadora)

“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

Março/2015

FICHA CATOLOGRÁFICA

S579c Silva, Élica Renata Soares

Composição química dos estágios de desenvolvimento, ninho e veneno de *Protopolybia exigua*/ Élica Renata Soares da Silva. Dourados, MS: UEMS, 2015.

37 f.

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Andrea Lima Cardoso.

1. Hidrocarbonetos cuticulares 2. Ontogenia 3. Polietismo temporal I. Título

CDD 23.ed. - 547.01

Élica Renata Soares da Silva

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ESTÁGIOS DE
DESENVOLVIMENTO, NINHO E VENENO DE
*Protopolybia exigua***

Dourados, 05 de março de 2015.

Banca Examinadora:

Prof.^a. Dr.^a. Claudia Andrea Lima Cardoso
Presidente

Prof. Dr. Jorge Luiz Raposo Junior

Prof. Dr. Wedson Desidério Fernandes

"Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a
vitória é o desejo de vencer"

Mahatma Gandhi

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação ao meu amor e companheiro, Jozimar Gomes da Silva e aos meus pais pelo apoio, carinho, pela compreensão de minhas ausências e pelos sacrifícios realizados.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, por ter me concedido capacidade, força, determinação para realizar este trabalho;

Aos meus familiares, por sempre acreditarem em meu potencial e estarem ao meu lado;

A minha orientadora, Dr^a. Claudia Andrea Lima Cardoso, pelo imenso apoio, paciência e dedicação a mim durante esta etapa de mestrado, pois sem sua enorme capacidade de trabalho o desenvolvimento desta dissertação não seria possível;

A minha Coorientadora Margareth Batistote, pela confiança e suporte, pelo seu apoio e disponibilidade e por me apoiar nesta minha decisão de seguir carreira acadêmica;

Ao Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior pela disponibilidade e atenção a mim dispensada em todos os momentos de dúvida;

A todos do grupo LABECO, que tanto colaborou comigo, nas coletas, nas análises biológicas, além de inestimável ajuda em todas as demais etapas deste estudo;

Ao Técnico de Nível Superior Msc. Franksteffen Silva Maia, pelo apoio, pela ajuda constante nas análises laboratoriais e em assuntos tecnológicos;

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais.

Aos meus amigos, por estarem sempre comigo, presentes em minha vida, me apoiando, incentivando e me ajudando a superar essa etapa em minha vida;

Ao Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais, pela oportunidade e apoio;

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul pela oportunidade de realizar este trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1° CAPÍTULO- CONSIDERAÇÕES GERAIS	3
Vespas sociais: Características gerais	3
Comunicação química em vespas sociais	4
OBJETIVOS	8
Objetivo geral	8
Objetivos específicos	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
2°CAPÍTULO- COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO, NINHO E VENENO DE <i>Protopolybia exigua</i> (SAUSSURE, 1854) (HYMENOPTERA, POLISTINAE, EPIPONINI).	15
INTRODUÇÃO	15
MATERIAIS E MÉTODOS	18
Coleta de material	18
Separação nos estágios de desenvolvimento	18
Extração dos compostos químicos do ninho e da cutícula dos diferentes estágios de desenvolvimento	18
Determinação da idade das operárias	19
Extração de glândulas de veneno	19
Análise química dos estágios de desenvolvimento, ninho e veneno	20
Análise estatística	21
RESULTADOS E DISCUSSÕES	21
Perfis químicos cuticulares dos diferentes estágios desenvolvimento e do ninho. .	21
Variação da composição química dos compostos apolares do veneno em relação a idade de operárias da vespa <i>P. exigua</i>	28
CONCLUSÕES	31
AGRADECIMENTOS	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

RESUMO

Um dos fatores que proporcionaram aos insetos o seu sucesso evolutivo foi à habilidade que desenvolveram para perceber e interpretar o meio ambiente por meio de sistemas sensoriais complexos. Vários mecanismos são empregados em sua comunicação, sendo os mais efetivos os sinais químicos, que facilitam as interações sociais durante o reconhecimento de companheiros de ninhos. A assinatura química é específica de cada colônia ou mesmo de cada indivíduo é adquirida ao longo do desenvolvimento, ou seja, desde o estágio de ovo até a fase adulta. Esta assinatura também pode estar relacionada à composição dos materiais utilizados na construção de seu ninho, que é uma mistura de diversos tipos de secreções, sobretudo as salivares com material vegetal. O veneno é importante para manutenção das colônias de vespas. Sua composição pode variar de acordo com vários fatores, entre eles a própria idade da operária. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a variação da composição química da cutícula da vespa *Protopolybia exigua* ao longo dos estágios de desenvolvimento, do ninho e do veneno das operárias em diferentes idades. Com esse fim, emprega-se a técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. De acordo com os resultados obtidos, os compostos químicos cuticulares dos diferentes estágios de desenvolvimento e do ninho de *P. exigua* são iguais em termos qualitativos, porém diferentes em termos quantitativos, mostrando que estes compostos devem ser usados como sinais para o reconhecimento de coespecíficos nas colônias. Por outro lado, a variação desses compostos entre diferentes colônias não é significativa, embora este fato, provavelmente esteja relacionado ao nível de parentesco entre elas e ao compartilhamento dos mesmos recursos. Os compostos apolares do veneno variaram significativamente de acordo com a idade das operárias, provavelmente em função do tipo de tarefa executada por elas, sendo que há um claro aumento da complexidade dos compostos na medida em que as vespas ficam mais velhas, quando executam tarefas de maior risco, como o forrageamento, havendo maior necessidade do uso do veneno.

Palavras-chave: hidrocarbonetos cuticulares, ontogenia, polietismo temporal.

ABSTRACT

One of the factors responsible for the evolutionary success of insects was the ability to sense and interpret the environment by means of their complex sensorial systems. Several mechanisms are employed in its communication, the most effective being the chemical signals that facilitate social interactions during the recognition nest mates. The specific chemical signature of each colony or even of each individual is acquired along their development, that is, since the egg to the adult stage. This signature can also be related to the composition of the materials employed in the construction of the nest, which is a mixture of secretions of various types, especially the salivary with plant material. The poison is also important chemicals for maintenance of wasp colonies. Its composition may vary according to several factors, among them the very age of the worker. Therefore, the objective of this study was the evaluation of the chemical composition of the *Protopolybia exigua* wasp along its different development stages, from the nest substrate to the poison of the worker adults with different ages. To achieve this goal, it is employed the gas chromatography coupled to the mass spectrometry. According to the obtained results, the chemical cuticular compounds for the different stages of development and of the nest of *P. exigua* are qualitatively similar, but quantitatively different, demonstrating that these compounds can be used as signals for the identification of coespecific individuals in the colonies. On the other hand, the variations in these compounds between different colonies are not significant, although this fact may be related to the parental level between them and to the sharing of the same resources. The non-polar compounds of the poison vary significantly according to the age of the workers, probably due their different tasks, in which there is a clear increase in the complexity of the compounds as the wasps become older, when they execute higher risk activities, such as foraging, and need to make more use of poison.

Keywords: cuticular hydrocarbon, ontogeny, temporal polyethism.

1º CAPÍTULO- CONSIDERAÇÕES GERAIS

Vespas sociais: Características gerais

As vespas consideradas eussociais apresentam três características que definem este comportamento: a sobreposição de geração, o cuidado cooperativo com a prole e a divisão reprodutiva de trabalho entre as castas (Wilson, 1971). Os vespídeos sociais da família Vespidae são classificadas em três subfamílias: Stenogastrinae, Vespinae e Polistinae (Carpenter, 1988; Carpenter, 1991). Dentre elas, a subfamília Polistinae tem distribuição cosmopolita, com sua maior diversidade na região tropical, especialmente a Neotropical (Carpenter & Marques, 2001).

No Brasil há registro de vinte e dois gêneros de Polistinae, distribuídos desde a Floresta Amazônica até Mata Atlântica (Carpenter & Marques, 2001). Dentro da classificação atualmente mais aceita, essa subfamília é dividida em quatro tribos: Epiponini, Mischocyttarini, Ropalidiini e Polistini (Carpenter, 1993) sendo que essas quatro tribos apresentam comportamento eussocial, mas diferem entre si quanto aos detalhes da vida social (Montagna, 2009). Dentre as espécies que compõem a tribo Epiponini ocorrem algumas variações nos sistemas de diferenciação de castas. Em alguns casos as rainhas apresentam tamanho corporal maior que as operárias (Carpenter & Marques, 2001), ou as rainhas podem ser menores que as operárias como em *Polybia dimidiata* (Shima *et al.*, 1996), ou ainda apresentar pequenas variações ou nenhuma em relação as operárias. Nestes casos, a diferenciação é feita somente por análise do desenvolvimento ovariano (Noll & Zucchi, 2000).

O tipo de fundação de colônias nesta tribo é realizado por enxameamento, na qual um grupo composto por várias fêmeas férteis (rainhas), acompanhadas por dezenas de fêmeas estéreis (operárias e intermediárias) fundam uma nova colônia (Machado, 1974). As rainhas são responsáveis pela oviposição e as operárias selecionam o novo local para o ninho e fazem o deslocamento, marcando o caminho por meio feromônios de trilha (Naumann, 1975; Jeanne, 1981; West-Eberhard, 1982).

Nas vespas sociais e em outros insetos que vivem em sociedade, os ninhos servem como defesa contra predadores, manutenção das condições microclimáticas,

além disto, favorece as interações sociais e preservação de integridade estrutural (Jeanne, 1977).

Há uma grande variedade nos formatos dos ninhos dentro desta tribo como de forma geral ocorre também na subfamília Polistinae (Souza & Sanuncio, 2012). Para a construção do ninho na maioria das vespas sociais utilizam de fibra vegetal e unem-nas a uma secreção oral (Gullan & Cranston, 2010; Prezoto & Clement, 2010). Possuem uma coloração clara e suas colônias apresentam uma duração relativamente curta (Prezoto & Clement, 2010). Em particular os ninhos na espécie de *Protopolybia exigua* são construídos debaixo ou entre folhas. São ninhos com um número variável de favos, todos recobertos por um invólucro e sustentados por vários pedúnculos internamente (Prezoto & Clement, 2010).

Comunicação química em vespas sociais

De forma geral um dos fatores que proporcionaram aos insetos o seu sucesso evolutivo foi a habilidade que desenvolveram para perceber e interpretar o meio ambiente por meios de sistemas sensoriais complexos (Gullan & Cranston, 2010). De fato estes sistemas proporcionaram aos insetos que vivem em sociedade, incluindo as vespas sociais, um sistema de comunicação usando sinais de diferentes naturezas. Entre estes sinais estão os sinais sonoros, táteis, visuais e químicos, sendo que os sinais químicos ocorrem de forma muito mais efetiva nos insetos, incluindo os sociais (Gullan & Cranston, 2010).

Dentre os sinais químicos estão presentes os feromônios voláteis e os denominados superficiais. Entre os feromônios voláteis mais estudados aqueles que desencadeiam reações fisiológicas específicas, entre elas, as sexuais, de agregação, de espaçamento, de formação de trilha e de alarme (Gullan & Cranston, 2010). Os feromônios de superfície, por outro lado, encontram-se na cutícula do inseto, são compostos de maior massa moleculares com cadeias mais longas e são identificados pelos companheiros via contato direto (Blomquist, 2010).

A cutícula dos insetos é formada por várias camadas, sendo que a camada mais superficial, a epicutícula, é uma camada composta por diversas classes de compostos. Entre estes os hidrocarbonetos apresentam como função primordial a redução da

permeabilidade da cutícula de forma a proteger o inseto contra a dessecação e patógenos (Lockey, 1988; Blomquist, 2010).

Os hidrocarbonetos são uma das principais classes de compostos que compõem a cutícula dos insetos, sobretudo os alcanos, alcanos ramificados e alcenos (Howard & Blomquist, 2005). Os hidrocarbonetos normalmente são misturas complexas que variam de forma quantitativa e qualitativa (Blomquist, 2010). A diversidade de compostos e complexidade estrutural desses arranjos permitem que os insetos carreguem informações complexas em sua cutícula (Lorenzi *et al.*, 1996). Assim, as possíveis combinações obtidas a partir da variação na posição metil nos alcanos e posição das ligações duplas nos alcenos podem ter evoluído de modo a aumentar o conteúdo informacional desses arranjos sem prejudicar sua habilidade de retenção de água (Blomquist, 2010).

Nos insetos sociais, estes arranjos de hidrocarbonetos cuticulares constituem um perfil químico que funciona como uma verdadeira “assinatura química” que é determinado tanto geneticamente quanto ambientalmente (Khidr *et al.*, 2013). Assim, diferentes populações podem apresentar composições químicas variadas, podendo diferir de acordo com as diferentes regiões (Dapporto *et al.*, 2004; Dapporto *et al.*, 2009).

As variações de hidrocarbonetos cuticulares entre colônias formam entre os membros um perfil químico colonial (Cotoneschi *et al.*, 2007; Constanzi *et al.*, 2013). Em vespas sociais, pode ser adquirida em poucas horas após a emergência do adulto pelo contato com o material do ninho (Pfennig *et al.*, 1983, Lorenzi *et al.*, 2004, Neves *et al.*, 2013), o que pode ser usado no processo de reconhecimento por companheiras de ninho (Lorenzi, *et al.*, 1996).

Ainda que as colônias tenham seu próprio perfil químico, podem ocorrer diferenças em nível de indivíduo, permitindo assim, identificar e ser identificados por outros indivíduos. Essas variações podem ocorrer quanto a idade, sexo, casta e fertilidade (Sledge *et al.*, 2001; Cotoneschi *et al.*, 2009; Bonckaert *et al.*, 2012, Neves *et al.*, 2012).

Estes hidrocarbonetos presentes na superfície dos ovos de vespas podem indicar se foram ovipositados por rainhas ou operárias (Bonckaert *et al.*, 2012), como nas espécies de *Polistes* a rainha é capaz de reconhecer seus ovos e realiza oofagia nos ovos

ovipositados por outras fêmeas (Gervet, 1964; Lorenzi & Filippone, 2000). O estudo de Panek & Gamboa (2000) demonstra que em *P. fuscatus* fundadoras foram capazes de discriminar suas próprias larvas de parasitas, mesmo quando apresentados fora do ninho, enquanto que em *P. dominula*, Cervo *et al.*, (2008) reportam que os adultos são capazes de reconhecer larvas de intrusos das larvas de sua própria colônia.

Neste sentido na vespa *P. fuscatus*, o perfil químico dos adultos são similares aos das larvas (Panek & Gamboa, 2000). Por outro lado, Brown *et al.*, (1991) encontraram diferenças quantitativas na composição de hidrocarbonetos cuticulares de larvas, pupas e adultos da *Vespula germanica*, havendo portanto, um perfil químico específico para cada um dos estágios de desenvolvimento.

Estas diferenças podem estar relacionadas ao fato que estes estágios de desenvolvimento se distinguem, sobretudo pelo tipo de dieta. As vespas adultas utilizam recursos alimentares à base de carboidratos (Bichara-Filho, 2003). Contudo, no estágio larval a dieta é protéica (Suzuki, 1978), embora possam receber também fluídos contendo carboidratos (Edwards, 1980).

Portanto, fica claro que cada estágio de desenvolvimento têm seu próprio perfil químico cuticular (Cotoneschi *et al.*, 2007) e isto deve permitir que os membros das colônias mantenham sua coesão por meio das interações entre eles (Constanzi *et al.*, 2013).

Além disso, os compostos cuticulares dos membros das colônias guardam uma relação íntima com os compostos químicos do próprio ninho (Sumana, *et al.*, 2005). Durante a construção do ninho é usada uma mistura de secreções, sobretudo a secreção salivar em associação ao material vegetal, sendo estes materiais fornecem compostos para ao perfil químico da colônia (Singer & Espelie, 1992). Além do mais outros compostos presentes nos ninhos podem ser oriundos de excreções da glândula de Van de Vecht, podendo estar relacionado com a proteção contra ataques de formigas ao ninho (Post & Jeanne, 1981; Espelie & Hermann, 1990). De modo que Dani (2003) sugeriu que a composição química destas glândulas e dos ninhos são similares e são fontes de hidrocarbonetos, podendo parte dos compostos da colônia ocorrer pela relação de troca entre os diferentes estágios de desenvolvimento com o ninho (Brown *et al.*, 1991).

O veneno também é responsável pela manutenção e coesão das colônias e está presente em uma glândula no abdômen, que por protrusão e extrusão do ferrão é expelido (Manzoli-Palma & Gobbi, 1997). Sua função primária é a captura de presas, porém se tornou um eficiente meio de defesa, sobretudo em vertebrados, principalmente nas espécies sociais (Macalintal & Starr, 1996).

Os insetos sociais são capazes de sintetizar compostos para a produção de veneno, característica importante principalmente durante a fase da vida em que as operárias deixam os trabalhos no interior do ninho e passam a realizá-los fora, expondo-se frequentemente a situações de perigo (Ortiz & Camargo-Mathias, 2006).

O veneno é constituído por compostos, que são selecionados para a sobrevivência das espécies (Abdel-Rahman *et al.*, 2009). Em particular, o veneno de Hymenoptera é constituído por complexas moléculas orgânicas, proteínas, peptídeos, lipídeos, aminas vasoativas (norepinefrina, histamina e dopamina) e enzimas como fosfolipases, hialuronidases e fosfatases (Edstron, 1992; Lima & Brochetto-Braga, 2003). Contudo, pode ser composto predominantemente por aminoácidos ou uma mistura complexa de compostos de baixa massa molecular (Palma, 2006). Em estudos de compostos de baixa massa molecular ésteres, álcoois e hidrocarbonetos, podem ser responsáveis pela agregação dos companheiros para a proteção do ninho (Sledge *et al.*, 1999; Dani *et al.*, 1998; Weston *et al.*, 1997; Bruschini *et al.*, 2008, Bruschini & Cervo, 2011).

A composição do veneno, por outro lado pode variar, de acordo com a idade, em função que esse indivíduo executa na colônia (Pacala *et al.*, 1996). Durante a ontogenia comportamental, as operárias realizam um subconjunto de tarefas em um dado momento de sua vida, podendo trocar de atividade em resposta às interações com o ambiente e com outros membros da colônia (Pacala *et al.*, 1996). As operárias jovens trabalham primeiro em funções menos arriscadas dentro do ninho e passam a realizar trabalhos mais arriscados fora do ninho quando estão mais velhas (Jeanne & Downing; 1988).

Neste sentido, deve existir uma correlação entre a idade da operaria e a tarefa por ela desenvolvida (Giannotti, 1997; Torres *et al.*, 2009; Torres *et al.*, 2012). 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 (Torres *et al.*, 2013).

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, 1979; Owen, 1990).

As vespas sociais da tribo Epiponini são abundantes no Brasil, mas ainda há pouca informação quanto à composição química dos compostos cuticulares e do veneno de *Protopolybia exigua*. De tal modo este estudo visou investigar o perfil químico cuticular dos diferentes estágios de desenvolvimento e se estes mostrariam alguma relação com ninho. Também foram realizadas análises químicas em relação ao perfil químico dos compostos apolares do veneno das operárias desta vespa e sua relação com a composição obtida em suas diferentes idades.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a composição química cuticular ao longo dos estágios de desenvolvimento e do ninho, e avaliar a relação entre a composição do veneno e a idade das operárias da vespa *P. exigua*.

Objetivos específicos

- Analisar as variações na composição da química cuticular ao longo do desenvolvimento da vespa *P. exigua*.
- Avaliar a composição química dos ninhos de *P. exigua*.
- Avaliar as variações químicas da fração apolar do veneno de *P. exigua*, de acordo com a idade das operárias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAHMAN, M. A.; OMRAN, M. A. A.; ABDEL-NABI, I. M.; UEDA, H.; MCVEAN, A. Intraspecific variation in the Egyptian scorpion *Scorpio mauruspalmaris* venom collected from different biotopes. **Toxicon**, v.53, p.349-359, 2009.

BICHARA-FILHO, C. C. **Aspectos da biologia e ecologia de *Polybia (Trichothorax) sericea* (Olivier, 1791) (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini) no semi-árido baiano.** 2003. 120p. Tese (Doutorado em Ciências, Área Entomologia) – FFCLRP-USP, Ribeirão Preto, 2003.

BLOMQUIST, G. L. Structure and analysis of insect hydrocarbons. In: BLOMQUIST, G. J.; BAGNÈRES, A-G.(Ed.). **Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology**. New York: Cambridge University Press, 2010. p. 19-35.

BONCKAERT, W.; DRIJFHOUT, F. P.; D'ETTORRE, P.; BILLEN, J.; WENSELEERS, T.. Hydrocarbon signatures of Egg Maternity, Caste Membership and Reproductive Status in the Common Wasp. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, n.1, p.42-45, 2012.

BROWN, W.V.; SPRADBERY, J.P.; LACEY, M.J. Changes in cuticular hydrocarbon composition during development of the social wasp, *Vespula germanica* (F) (Hymenoptera: Vespidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.99B, n.3 p.553-562, 1991.

BRUSCHINI, C.; CERVO, R.; PROTTI, I.; TURILLAZZI, S. Caste differences in venom volatiles and their effect on alarm behaviour in the paper wasp *Polistes dominulus* (Christ). **The Journal of Experimental Biology**, v.211, n.15, p.2442-2449, 2008.

BRUSCHINI, C.; CERVO, R. Venom volatiles of the paper wasp social parasite *Polistes sulcifer* elicit intra-colonial aggression on the nest of the host species *Polistes dominulus*. **Insects Sociaux**, v.58, p. 383–390, 2011.

CARPENTER, J. M. The phylogenetic system of the Stenogastrinae (Hymenoptera: Vespidae). **Journal of the New York Entomological Society**, v.96, p.140-175, 1988.

CARPENTER, J. M. Phylogenetic relationships and the origin of social behavior in the Vespidae. In: ROSS, K.G.; MATTHEWS, R. W. **The social biology of wasp**. Ithaca: A.Cornell University Press, p.7-32. 1991.

CARPENTER, J. M. Biogeographic patterns in the Vespidae (Hymenoptera): Two views of Africa and South America. In: GOLDBLATT, P. **Biological relationships between Africa and South America**, New Haven, CT: Yale University Press, 1993. p. 139-155.

CARPENTER, J. M.; MARQUES O. M. 2001. **Contribuição ao estudo dos vespídeos do Brasil (Insecta, Hymenoptera, Vespidae, Vespidae)**. Cruz das Almas, Universidade Federal da Bahia. Publicações Digitais, Vol. II. 2001.

CERVO, R.; DANI, F. R.; COTONESCHI, C.; SCALA, C.; LOTTI, I.; STRASSMANN, J. E.; QUELLER, D. C.; TURILLAZZI, S. Why are larvae of the social parasite wasp *Polistes sulcifer* not removed from the host nest? **Behavior Ecology Sociobiology**, v.62, n.8, p.1319-1331, 2008.

COSTANZI, E.; BAGNÈRES, A-G.; LORENZI, M. C. Changes in the hydrocarbon proportions of colony odor and their consequences on nestmate recognition in social wasps. **Plos One**, v. 8, n. 5, p. 1-11, 2013.

- COTONESCHI, C.; DANI, F. R.; CERVO, R.; SLEDGE, M. F.; TURILLAZZI, S. *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) larvae possess their own chemical signatures. **Journal of Insect Physiology**, v. 53, n.9, p.954–963, 2007.
- COTONESCHI, C.; DANI, F. R.; CERVO, R.; SCALA, C.; STRASSMANN, J. E.; QUELLER, D. C.; TURILLAZZI, S. *Polistes dominulus* (Hymenoptera, Vespidae) larvae show different cuticular patterns according to their sex: workers seem not use this chemical information. **Chemical Senses**, v.34, n.3, p. 95–202, 2009.
- DANI, F. R.; MORGAN, E. D.; JONES, G. R.; TURILLAZZI, S.; CERVO, R.; FRANCKE, WITTKO. Species-specific volatile substances in the venom sac of hover wasps. **Journal of Chemical Ecology**, v.24, n. 6, 1998
- DANI, F.R.; JONES, G.R.; MORGAN, E.D.; TURILLAZZI, S. Reevaluation of the chemical secretion of the sternal glands of *Polistes* social wasps (Hymenoptera-Vespidae). **Ethology, Ecology & Evolution**, v.15, n.1, p.73-82, 2003.
- DAPPORTO, L.; THEODORA, P.; SPACCHINI, C.; PIERACCINI, G.; TURILLAZZI, S. Rank and epicuticular hydrocarbons in different populations of the paper wasp *Polistes dominulus* (Christ) (Hymenoptera, Vespidae). **Insectes Sociaux**, v.51, p.279–286, 2004.
- DAPPORTO, L.; LIEBERT, A. E.; STARKS, P. T.; TURILLAZZI, S. The relations between cuticular hydrocarbon composition, faunal assemblages, inter-island distance, and population genetic variation in Tuscan Archipelago wasps. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, p. 341–348, 2009.
- EDSTROM, A. **Venomous and Poisonous Animals**. Malabar: Krieger Publishing Company, 1992, 210 p.
- EDWARDS, R. Social wasps: their biology and control. Great Britain: Rentokil Ltda, 1980. 397p.
- ESPELIE, K.E.; HERMAN, H. E. Surface Lipids of the social wasp *Polistes anullaris* (L.) and its nest and nest pedicel. **Journal of Chemical Ecology**, v.16, n.6, p. 1841-1852, 1990.
- GERVET, J. Le comportement d'oophagie différentielle chez *Polistes gallicus* L. (Hymenoptere: Vespidae). **Insectes Sociaux**, v.11, p.343–382, 1964.
- GIANNOTTI, E. Biology of the wasp *Polistes* (*Epicnemius*) *cinerascens* Saussure (Hymenoptera: Vespidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.26, p. 61–67, 1997.
- GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **The Insects: an outline of entomology**. 4° ed. Hoboken, New Jersey: Wiley-Blackwell, 2010. 565p.
- HOWARD, R. W.; BLOMQUIST, G. J. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. **Annual Review of Entomology**, v. 50, p. 371-93, 2005

JEANNE, R.L. Ultimate factor in social wasp nesting behavior. Proc. 8th. Int. Cong. Int. Union Study Soc. **Insects**, 1977. p. 164-168.

JEANNE, R.L. Chemical communication during swarm emigration in the social wasp *Polybia sericea* (Olivier). **Animal Behavior**, v.29, p.102-113, 1981.

JEANNE, R. L.; DOWNING, H. A.; POST, D. C. Age polyethism and individual variation in *Polybia occidentalis*, an advanced eusocial wasp. In: JEANNE, R. L. (Ed.). **Interindividual behavioral variability in social insects**. Colorado: Westview Press, 1988. p. 323-357.

KHIDR, S. K.; LINFORTH, R. S.T; HARDY, C.W. Genetic and environmental influences on the cuticular hydrocarbon profiles of *Goniozus* wasps. **The Netherlands Entomological Society Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.147, n.2, p.175-185, 2013.

LIMA, P. R. M.; BROCHETTO-BRAGA, M. R. Hymenoptera venom review focusing on *Apis mellifera*. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v.9, n.2, p.149-162, 2003.

LOCKEY, K. H. Lipids of the insect cuticle: Origin, composition and function. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 89B, n.4, p.595-645, 1988.

LORENZI, M.C.; BAGNERES, A.G.; CLEMENT, J.L. The role of cuticular hydrocarbons in social insects: is it the same in paper-wasps? In: Turillazzi, S., West-Eberhard, M.J. (Eds.), **Natural History and Evolution of Paper Wasps**. Oxford University Press, Oxford, 1996, p.178-189.

LORENZI, M.C.; FILIPPONE, F.. Opportunistic discrimination of alien eggs by social wasps (*Polistes biglumis*, Hymenoptera, Vespidae): a defence against social parasitism? **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.48, n.5, p.402-406, 2000.

LORENZI, M.C.; SLEDGE, M.F.; LAIOLO, P.; STURLINI, E., TURILLAZZI, S. Cuticular hydrocarbon dynamics in young adult *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) and the role of linear hydrocarbons in nestmate recognition systems. **Journal of Insect Physiology**, v.50, p.935-941, 2004.

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

MACHADO, V. L. L. Estudos Bioquímicos e Microbiológicos do Tubo Digestivo de *Protopolybia exigua* (Saussure, 1854). **Revista Brasileira da Biologia**, v. 35, n.1, p. 83-86, 1975.

MANZOLI-PALMA, M. S. C.; GOBBI, N. Muscles-bearing of sting apparatus in social wasp and their relationship with the autotomy (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae). **Journal of Advanced Zoology**, v.18, n.1, p.1-6, 1997.

MONTAGNA, T. S.; DUTRA, C. C.; SÚAREZ, Y. R.; ANTONIALLI-JUNIOR, W. F.; ALVES JUNIOR, V. V.. Study of the Foraging Activity of *Mischocyttarus consimilis* (Hymenoptera: Vespidae). **Sociobiology**, v. 53, p.131-140, 2009.

NAUMANN, M. G. Swarming Behavior: evidence for communication in social wasp. **Science**, v.189, p.642-644, 1975.

NEVES, E.F.;MONTAGNA, T. S.; ANDRADE, L. H. C. SÚAREZ, Y. R, LIMA, S. M. ANTONIALLI, JR., W. F. Social Parasitism and Dynamics of Cuticular Hydrocarbons in Paper Wasps of the Genus *Mischocyttarus*, **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.86, n.1, p.69-77, 2013.

NEVES, E.F.; ANDRADE, L.H.C.; SÚAREZ, Y.R.; LIMA, S.M.; ANTONIALLI-JUNIOR, W.F. Age related changes in the surface pheromones of the wasp *Mischocyttarus consimilis* (Hymenoptera: Vespidae). **Genetics and Molecular Research**, v.11, n.3, p.1891-1898, 2012.

NOLL,F.B.; ZUCCHI,R. Increasing caste differences related to life cycle progression in some neotropical swarm founding polygynic wasps (Hymenoptera,Vespidae,Epiponini). **Ecology, Ethology & Evolution**, v.12, n.1, p.43-65, 2000.

ORTIS, G.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Morphophysiological differences of the sperm theca of Attain ants (Hymenoptera:Myrmicinae). **American Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 1, p.58-65, 2006.

OWEN, M.D. Relationship between age and hyaluronidase activity in the venons of queen and worker honey bees (*Apis mellifera l.*). **Toxicon**, v. 17, p. 94-98, 1979.

OWEN, M. D.; PFAFF, L. A.; REISMAN, R. E.; WYPYCH, J. Phospholipase a 2 in venom extracts from honey bees (*Apis mellifera. l.*) of different ages. **Toxicon**, v.2m. n.7. p. hi3--h20. 1990.

PACALA, S. W.; GORDON, D. M.; GODFRAY, H. C. Effects of social group size on information transfer and task allocation. **Evolutionary Ecology**, v.10, p.127-165, 1996.

PALMA, M. S. Insect Venom Peptides. In:*Kastin A.J. (Org.).The Handbook of Biologically Active Peptides*. Oxford: Ed. Academic Press, 2006. p.409-416.

PANEK, L.M.; GAMBOA, G.J.. Queens of the paper wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae) discriminate among larvae on the basis of relatedness. **Ethology**, v.106, p. 159-170, 2000.

PFENNIG, D.W.; GAMBOA, G.J.; REEVE, H.K.; SHELLMAN-REEVE, J.S.; FERGUSON I.D. The mechanism of nestmate discrimination in social wasps (*Polistes*, Hymenoptera, Vespidae). **Behavior Ecology and Sociobiology**, v.13, n.4, p.299–305, 1983.

POST, D. C.; JEANNE. R. L. Colony defense against ants by *Polistes fuscatus* (Hymenoptera:Vespidae) in Wisconsin. **Journal of the Kansas Entomology Society**, v.54, p.599-615, 1981

PREZOTO, F.; CLEMENTE, M. A. Vespas sociais do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **MG. Biota** 3. 2010. p. 22–31.

SHIMA, S.N.; YAMANE, S.; ZUCHCHI, R. Morphological caste differences in some Neotropical swarm-founding polistine wasp II- *Polybia dimidiata* (Hymenoptera, Vespidae). **Japanese Journal of Entomological**, v.64, n.1, p.131-144, 1996.

SINGER, T. L.; ESPELIE, K.E. Social wasps use nest paper hydrocarbons for nest mate recognition. **Animal Behavior**, v.44, p.63-68, 1992.

SLEDGE, M.F.; DANI, F. R.; FORTUNATO, A. ; MASCHWITZ, U.; CLARKE, S. R.; FRANCESCATO, E.; HASHIM, R.; MORGAN, E. D.; JONES, G. R. ; TURILLAZZI, S. Venom induces alarm behaviour in the social wasp *Polybioides raphigastra* (Hymenoptera: Vespidae): an investigation of alarm behaviour, venom volatiles and sting autotomy. **Physiological Entomology**, v.24, p.234-239, 1999.

SLEDGE, M. F.; BOSCARO, F.; TURILLAZZI, S. Cuticular hydrocarbons and reproductive status in the social wasp *Polistes dominulus*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.49, n.5, p.401-409, 2001.

SOUZA, M. M.; J. C. ZANUNCIO. **Marimbondos: vespas sociais (Hymenoptera: Vespidae)**. Editora UFV, 2012. 79 p.

SUMANA, A.; LIEBERT, A.E.; BERRY, A.S.; SWITZ, G.T.; ORIAN, C.M.; STARKS, P.T.; Nest hydrocarbons as cues for philopatry in a paper wasp. **Ethology**, v.111, p.469-477, 2005.

SUZUKI, T. Area, efficiency and time of foraging in *Polistes chinensis antennalis*, Pérez (Hymenoptera: Vespidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.28, p.179-189, 1978.

TORRES, V. O., MONTAGNA, T. S., RAIZER, J., ANTONIALLI-JUNIOR, W. F. Division of labor in colonies of the eusocial wasp, *Mischocyttarus consimilis*. **Journal of Insect Science**, v.12, n.1, p.1-15, 2012.

TORRES, V.O.; GIANNOTTI, E; ANTONIALLI-JUNIOR, W. F. Temporal Polyethism and Life Expectancy of Workers in the Eusocial Wasp *Polistes Canadensis canadensis* Linnaeus (Hymenoptera: Vespidae). **Sociobiology**, v.60, n.1, p.107-113, 2013.

TORRES, V. O.; ANTONIALLI-JUNIOR, W. F.; GIANNOTTI, E. Divisão de trabalho em colônias da vespa social neotropical *Polistes canadensis canadensis* Linnaeus (Hymenoptera, Vespidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.53, n.4, p.593–599, 2009.

WEST-EBERHARD, M. J. The nature and evolution of swarming in tropical social wasp (Vespidae, Polistinae, Polybiini). In: Jaisson, P. (ed). **Social Insects in the tropics**, Paris: Univ. Paris-Nord.1982, p.97-128.

WESTON, R. J .; WOOLHOUSE, A. D.;SPURR, E. B.; HARRIS, R. J.; SUCKLING, D. M. Spiroacetals and other venom constituents as potential wasp attractants. **Journal of Chemical Ecology**, v.23, n.3, 1997. WILSON, E. O. **The insect societies**. Harvard University Press, Cambridge Mass.1971. 548p.

2ºCAPÍTULO- COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO, NINHO E VENENO DE *Protopolybia exigua* (SAUSSURE, 1854) (HYMENOPTERA, POLISTINAE, EIPONINI).

INTRODUÇÃO

Protopolybia exigua (Saussure, 1854) (Hymenoptera, Polistinae) é uma vespa social neotropical que, no Brasil, ocorre do Acre ao Rio Grande do Sul, pertencente à tribo Epiponini, cuja fundação das colônias é realizada por enxameamento, na qual um grupo composto por várias fêmeas férteis (rainhas), acompanhadas por dezenas de fêmeas estéreis (operárias e intermediárias) fundam uma nova colônia (Machado, 1975).

O ciclo de vida desta espécie leva em torno de 41 a 45 dias, sendo que o estágio de ovo dura de 3 a 5 dias, o larval, de 18 a 20 dias e o de pupa 20 dias (Machado, 1975). Estes estágios de desenvolvimento se distinguem, sobretudo pelo tipo de dieta, sendo que as vespas adultas utilizam recursos alimentares à base de carboidratos (néctar) (Bichara-Filho, 2003) e as larvas de proteínas (Suzuki, 1978), embora possam receber também fluídos contendo carboidratos (Edwards, 1980).

As vespas sociais, como outros animais considerados sociais mantêm suas colônias coesas por meio de um sistema complexo de comunicação usando sinais, sendo eles, acústicos, sonoros, visuais, táteis e o mais efetivo, é o sinal químico (Krasnec & Breed, 2013). Os sinais químicos são responsáveis para carregar informações e são denominados de semioquímicos (Vilela & Della Lucia, 2001). Quando envolvidos na comunicação intraespecífica, são denominados de feromônios, ou em interações interespecíficas são chamados de aleloquímicos (Ali & Morgan, 1990; Richard & Hunt, 2013). Portanto, os sinais responsáveis pela comunicação química são importantes para organização social, pois estão envolvidos na coordenação de atividades básicas para a manutenção das colônias, como defesa, recrutamento e forrageamento (Billen & Morgan, 1998).

Os hidrocarbonetos são alguns dos compostos que estão presentes na cutícula dos insetos conhecidos como feromônios superficiais, contudo sua função primária é a proteção evitando a dessecação ou infecção por microrganismos (Blomquist &

Bagneres, 2010). Estes compostos caracterizam um perfil químico particular para os insetos, sobretudo os sociais, dessa forma, é considerada a “impressão digital” e permitem o reconhecimento de sinais específicos para cada colônia e mesmo de cada indivíduo, indicando, por exemplo, a idade e a tarefa dentro da colônia (Denis *et al.*, 2006; D’Ettorre & Moore, 2008; Blomquist & Bagneres, 2010).

Neste contexto o próprio ninho que abriga as colônias executa um papel fundamental nesse sistema de reconhecimento de coespecíficos entre companheiras, sendo que, a composição é similar ao dos indivíduos da colônia (Espelie & Hermann, 1990; Sumana *et al.*, 2005). O perfil químico da colônia pode estar relacionada a composição dos materiais vegetais utilizados para a sua construção associado as secreções de glândulas salivares (Brown *et al.*, 1991), por outras glândulas, como a glândula de Van de Vecht, que secreta compostos responsáveis a proteção do ninho para evitar ataques de formigas (Post & Jeanne, 1981; Espelie & Hermann, 1990). Além disto, as interações entre indivíduos e o ninho são importantes para obtenção deste perfil químico (Fortunato *et al.*, 2004; Lorenzi *et al.*, 2007; Neves *et al.*, 2013).

Dentre os fatores que possibilitam a variação deste perfil químico cuticular é possível destacar, o estágio que a colônia se encontra, o ambiente de nidificação ou o estágio de desenvolvimento do indivíduo. Durante o estagio do ovo já é possível perceber que há a presença destes compostos. Como nos estudos de Espelie & Hermann (1990) que mostram que os ovos apresentaram hidrocarbonetos e que com o passar do desenvolvimento dos estágios estes foram aumentando, mostrando um aumento da complexidade de composição. Esta variação também pode estar relacionada ao reconhecimento de cada estágio, uma vez que as operárias precisam reconhecer com quais estágios de desenvolvimento estão lidando, como para a alimentação de larvas (Torres *et al.*, 2013). Desse modo esta capacidade de reconhecimento deve ser importante, pois a determinação pré-imaginal de castas que ocorre em epiponni, uma vez que as larvas de potenciais rainhas são alimentadas diferentemente das larvas de operárias (Cotoneschi *et al.*, 2007).

A capacidade de reconhecimento de larvas de sua própria colônia, como visto em *P. fuscatus*, está relacionada a similaridade destes compostos entre estes estágios e os adultos e larvas (Panek & Gamboa, 2000). Por outro lado, Brown *et al.* (1991) encontraram diferenças quantitativas entre a composição de hidrocarbonetos cuticulares de larvas, pupas e adultos da *Vespula germanica*. Além disto, Lorenzi *et al.* (2004)

observara que os hidrocarbonetos cuticulares em *Polistes dominula* aumentam de forma significativa em poucos dias após a emergência dos adultos, até se completar o perfil químico de suas colônias.

O veneno é importante para manutenção das colônias de vespas e, portanto, responsáveis pelo seu sucesso evolutivo. Sua função primária é a captura de presas, tornando-se um eficiente meio de defesa, sobretudo em vertebrados, principalmente nas espécies sociais (Macalintal & Starr, 1996). O veneno em himenópteros é constituído basicamente de complexas moléculas orgânicas, proteínas, peptídeos, lipídeos, aminas biogênicas (norepinefrina, histamina e dopamina) e algumas enzimas como fosfolipases, hialuronidases e fosfatases (Souza *et al.*, 2005), podendo também ser descrito como em sua maioria constituído por proteínas e peptídeos, ou como uma mistura complexa de compostos de baixa massa molecular (Palma, 2006; Lin *et al.*, 2011; Casewell *et al.*, 2013).

Além disso, os compostos do veneno de vespas sociais, primariamente são utilizados como mecanismo de alarme e são excretados para produzir reações estereotipadas que funcionam para recrutar operárias e acelerar os movimentos e ataque na colônia (Ali & Morgan, 1990). A composição do veneno, por outro lado pode variar, de acordo com a idade, em função da tarefa que executa na colônia (Pacala *et al.*, 1996). Durante a ontogenia comportamental, as operárias realizam um subconjunto de tarefas em um dado momento de sua vida, podendo trocar de atividade em resposta às interações com o ambiente e com outros membros da colônia (Pacala *et al.*, 1996). As tarefas das operárias jovens são menos arriscadas no interior do ninho e quando mais velhas passam a realizar estas no exterior do ninho sendo mais arriscado (Jeanne & Downing, 1988).

Assim uma vez que a maioria dos estudos com esta espécie exploram apenas aspectos de sua biologia básica e algumas informações sobre a composição polar de seu veneno (Rocha *et al.*, 2009; Rocha & Giannotti, 2007; Mendes *et al.*, 2005; Mendes & Palma, 2006). Este estudo teve como o objetivo avaliar a variação dos compostos químicos cuticulares ao longo dos diferentes estágios de desenvolvimento, além da composição química dos ninhos e a composição química do veneno de operárias de acordo com a sua a idade empregando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta de material

Foram coletadas três colônias de *P. exigua* em março de 2014, no município de Dourados, no campus da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS) (S 22°20'23"; W 55°33'46"), todas as colônias estavam de dois a três metros de distancia entre elas. Estas colônias foram extraídas de seu sítio de nidificação durante o período diurno, envolvendo-as com um recipiente plástico em torno do ninho e em seguida despregando o pedúnculo de fixação. Toda a população, em seguida, foi levada ao laboratório, onde foram adormecidos por resfriamento em refrigerador a 9°C e em seguida sacrificados por congelamento. A espécie foi identificada e armazenada no LABECO (Laboratório de Ecologia Comportamental) na Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul.

Separação nos estágios de desenvolvimento

A composição química cuticular foi analisada nos seguintes estágios de desenvolvimento: ovos, larvas de quinto ínstar, pupas e adultos, foram utilizados 10 indivíduos para cada estágio por colônia. O tamanho dos ovos foram padronizados pela medida de sua largura e comprimento. As larvas de quinto instar foram utilizadas por ser o instar em que o perfil químico larval está completo. A determinação do instar foi feita baseada na medida da cápsula cefálica que deveria ser do tamanho das pupas recém encapsuladas e as pupas analisadas estavam na última etapa para tornar-se indivíduos adultos (Hunt *et al.*, 2007). Todos os indivíduos adultos eram fêmeas operárias.

A extração dos hidrocarbonetos cuticulares e da glândula de veneno ocorreu no máximo em sete dias após a coleta do material.

Extração dos compostos químicos do ninho e da cutícula dos diferentes estágios de desenvolvimento

Foram extraídos os compostos químicos da cutícula de 10 indivíduos de cada estágio por colônia. Para análise da composição química do ninho foi extraída cinco amostras de 1cm² da região das células centrais do ninho.

Os compostos químicos da cutícula e dos ninhos foram extraídos pela submersão das amostras em 1 mL e 4 mL de hexano (Grau HPLC, TEDIA), respectivamente por 2 minutos. Tanto os extratos dos diferentes estágios, quanto do ninho foram secos e após a secagem solubilizados separadamente em 100µL de hexano para análise cromatográfica.

Determinação da idade das operárias

As idades das operárias foram determinadas pela análise do apodema do 5º esternito, por meio da progressão da pigmentação que segundo Richards (1971) e West-Eberhard (1973), indicam que está acontecendo progressão na idade dos indivíduos. As operárias foram separadas em três categorias: jovens, intermediárias e velhas (Figura 1).

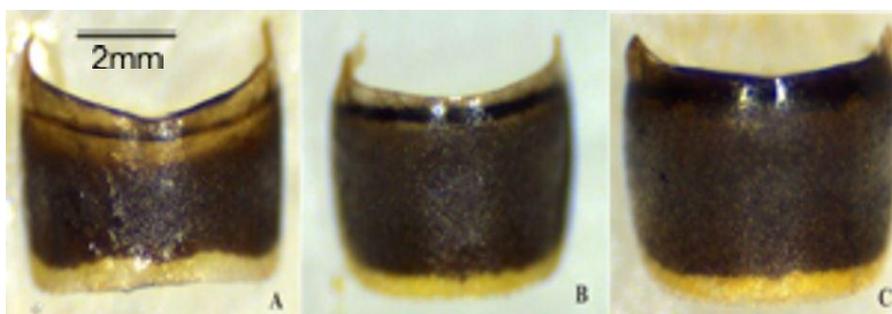


Figura 1: Idades relativas da vespa determinada por meio da coloração da linha na parte superior do apodema, quanto mais escura, mais velha a fêmea. Apodemas: A: jovem, B: intermediário, C: velha
Fonte: Silva, E.R.S.

Extração de glândulas de veneno

Para análise da variação da composição do veneno foram utilizados o conteúdo das glândulas de veneno de três operárias de cada categoria de idade por colônia. As glândulas de veneno foram retiradas com pinças finas sob estereomicroscópio acoplada a uma ocular micrométrica. As glândulas foram estouradas e seu conteúdo submergido em 1mL hexano (Grau HPLC, TEDIA) por 2 minutos. Após a filtração o solvente foi

seco em capelas de exaustão. Para a análise química cada extrato foi solubilizado em 100 μ L de hexano (Grau HPLC, TEDIA).

Análise química dos estágios de desenvolvimento, ninho e veneno

Para análise química dos compostos das 3 diferentes fontes de amostragem, foram realizadas empregando-se um cromatógrafo gasoso (GC-2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) com detector de massas (GC-MS 2010 Ultra) usando uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (60 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro x 0,25 μ m de espessura de filme). As temperaturas do injetor, detector e da linha de transferência foram 250°C, 280°C e 300°C, respectivamente. Volume de injeção de 1 μ L em modo injeção splitless. O gás de arraste empregado foi Hélio com o fluxo de 1 mL min⁻¹.

As condições de programação de temperatura para as matrizes variaram, para as amostras de estágios de desenvolvimento e ninho foram: rampa de aquecimento com temperatura inicial de 100°C alcançando 300°C à 3°C min⁻¹ e permanecendo na temperatura final por 20 minutos.

As condições de programação para as amostras de veneno foram: rampa de aquecimento com temperatura inicial de 150°C alcançando 300°C à 3°C min⁻¹ e permanecendo na temperatura final por 10 minutos. Em ambos, os cromatogramas foram registrados pelo programa Chrom Quest 5.0 e analisados pelo programa Workstation Chrom Data Review.

Os parâmetros de varredura do espectrômetro de massas incluíram voltagem de ionização de impacto de elétron de 70 eV, na faixa de massa de 45 a 800 m/z e com intervalo de varredura de 0.5s. A área do pico de cada composto foi determinada por integração manual de cada cromatograma de íons totais (TIC). Em seguida todas as áreas foram transformadas em áreas percentuais relativas

As identificações dos compostos foram realizadas empregando o índice de retenção calculado (Van den Dool & Kratz, 1963) usando uma mistura de alcanos lineares (\geq 90% pureza, C₁₄-C₃₆ Sigma Aldrich) como referência externa em relação ao índice de retenção da literatura (Nelson & Carlson, 1986; Lange *et al.*, 1989; Page *et al.*, 1990; Grunshaw *et al.*, 1990; Brown *et al.*, 1991) associado à interpretação dos

espectros de massas obtidos com as amostras e comparados com as bases de dados (NIST21 e WILEY229).

Os compostos presentes nas amostras dos estágios de desenvolvimento e no ninho foram expressos em abundância percentual relativa e para este estudo foram considerados minoritários aqueles que apresentaram abundância relativa menor que 2%, intermediários entre 3% e 6,99% e majoritários entre 7% e 19%. No veneno foram considerados como os minoritários quanto apresentaram abundância menor que 2%, intermediários 2% a 6,99% e majoritários os compostos que apresentaram teores entre 7% e 23%.

Análise estatística

Para avaliar a variação dos compostos químicos cuticulares entre os estágios de desenvolvimento e ninhos, bem como a variação da composição do veneno, de acordo com a idade da operária, foram empregadas análises de função discriminante, na qual Wilk's lambda é usado como parâmetro de avaliação da diferença entre os grupos. Valores próximos de 0 (zero) indicam que não há sobreposição dos grupos e valores próximos de 1 (um) indicam alta sobreposição entre os grupos (Vieira *et al.*, 2009). Altos valores de F mostram uma maior significância dos dados e P é significativo para valores menores que 0,05 (Triola, 2008; Goodpaster & Kennedy, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Perfis químicos cuticulares dos diferentes estágios desenvolvimento e do ninho.

Os 49 picos determinados nos cromatogramas estão presentes nas amostras de todas as colônias e em todos os estágios de desenvolvimento e no ninho (Tabela 1, Figura 2). Estes picos estão compreendidos entre os hidrocarbonetos tetradecano ao hexatriacontano, sendo que destes 41 picos foram identificados nas amostras representando entre 95-98% de abundância relativa, e oito não identificados que representaram 2-5% (Tabela 1).

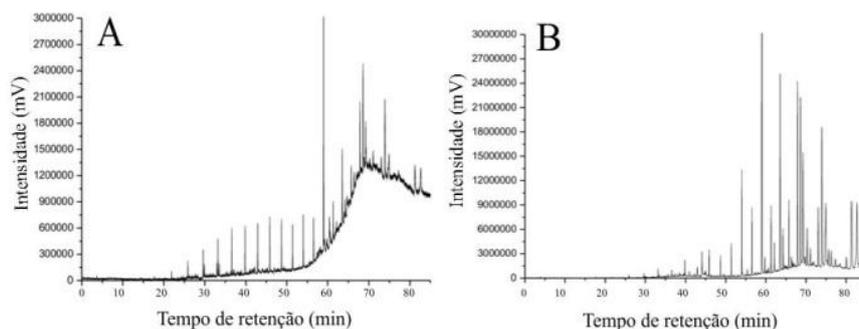


Figura 2: Cromatogramas representativos do indivíduo adulto (A) do ninho (B) de *P. exigua*.

Na análise estatística dos estágios de desenvolvimento e o ninho o desvio padrão relativo dos compostos cuticulares entre os indivíduos de uma mesma colônia estes foram menores que 1%. Entre as diferentes colônias nos estágio de ovo, larva e pupa o desvio padrão relativo foi menor que 3%, sendo que no estágio de adultos e o ninho variaram entre 10% (Tabela 1). Nesse sentido, no estudo de Cotoneschi *et al* (2007) os autores avaliaram maior diferença na assinatura cuticular entre os adultos de uma mesma colônia do que entre as larvas de colônias diferentes. Brown *et al* (1991) também descreveram que a composição quantitativa entre adultos de diferentes colônias é maior quando comparada a variação entre indivíduos de uma mesma colônia .

Tabela 1: Comparação entre alcanos lineares e alcanos ramificados identificados em diferentes estágios de desenvolvimento e do ninho de *P. exigua* analisados CG-EM.

Índice*	Compostos	M (%) ±DP **				
		Ovos	Larvas	Pupas	Adultos	Ninho
1400	tetradecano	0,42 ± 0,02	0,07 ± 0,00	0,05 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00
1500	pentadecano	0,21 ± 0,02	1,18 ± 0,05	0,41 ± 0,03	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01
1600	hexadecano	0,17 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,57 ± 0,29	0,20 ± 0,05	0,06 ± 0,03
1700	heptadecano	0,22 ± 0,04	0,61 ± 0,01	0,65 ± 0,10	0,43 ± 0,01	0,09 ± 0,03
1802	octadecano	1,95 ± 0,02	0,71 ± 0,06	1,22 ± 0,33	0,55 ± 0,03	0,19 ± 0,07
1874	3-metiloctadecano	5,36 ± 0,02	1,67 ± 0,05	0,53 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,01
1901	nonadecano	0,85 ± 0,03	0,26 ± 0,01	1,42 ± 0,23	0,62 ± 0,02	0,14 ± 0,03
1965	4-metilnonadecane	0,26 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,03	0,04 ± 0,00	0,13 ± 0,03
2000	eicosano	0,30 ± 0,01	0,70 ± 0,06	1,72 ± 0,33	0,70 ± 0,04	0,37 ± 0,06
2051	5-metileicosano	0,19 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,10 ± 0,05	0,01 ± 0,01
2078	3-metileicosano	0,33 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,03	0,18 ± 0,01	0,08 ± 0,03
2103	heneicosano	0,37 ± 0,02	0,18 ± 0,00	1,63 ± 0,10	0,74 ± 0,04	0,24 ± 0,07

2206	docosano	0,25 ± 0,01	0,28 ± 0,02	1,81 ± 0,58	0,79 ± 0,01	0,64 ± 0,08
2299	tricosano	0,31 ± 0,03	0,64 ± 0,01	2,54 ± 0,26	0,73 ± 0,02	0,48 ± 0,20
2333	9-metiltricosano	0,73 ± 0,01	0,10 ± 0,02	0,05 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,07 ± 0,01
2400	tetracosano	0,80 ± 0,02	0,78 ± 0,04	1,73 ± 0,02	0,68 ± 0,05	0,79 ± 0,03
2498	pentacosano	1,52 ± 0,01	7,86 ± 1,07	5,39 ± 0,14	0,80 ± 0,02	2,74 ± 0,36
2555	5-metilpentacosano	0,57 ± 0,01	4,78 ± 0,63	3,06 ± 0,06	0,06 ± 0,03	0,17 ± 0,03
2599	hexacosano	4,60 ± 0,02	2,13 ± 0,04	1,87 ± 0,45	0,76 ± 0,02	1,73 ± 0,36
2698	heptacosano	17,76 ± 0,02	19,36 ± 0,27	11,59 ± 0,20	4,33 ± 0,10	14,06 ± 0,02
2730	9-metilheptacosano	0,20 ± 0,01	0,28 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,44 ± 0,21	0,63 ± 0,13
2801	octacosano	3,35 ± 0,01	1,84 ± 0,04	1,24 ± 0,10	1,09 ± 0,39	1,90 ± 0,07
2832	10-metiloctacosano	11,77 ± 0,02	6,16 ± 0,22	1,34 ± 0,09	0,79 ± 0,03	0,96 ± 0,03
2898	nonacosano	9,42 ± 0,01	7,35 ± 0,16	3,17 ± 0,07	4,11 ± 0,07	6,40 ± 2,92
2929	9-metilnonacosano	0,20 ± 0,01	3,62 ± 0,04	1,96 ± 0,20	2,68 ± 0,05	1,62 ± 0,38
2999	triacontano	6,20 ± 0,02	1,56 ± 0,02	3,23 ± 0,20	3,52 ± 0,03	2,31 ± 0,01
3100	hentriacontano	11,73 ± 0,01	3,91 ± 0,52	5,94 ± 0,12	5,45 ± 0,94	7,36 ± 0,05
3130	9-metilhentriacontano	3,25 ± 0,01	14,64 ± 0,89	17,21 ± 0,30	7,17 ± 0,99	10,33 ± 2,10
3154	7-metilhentriacontano	2,66 ± 0,01	3,84 ± 0,20	13,28 ± 0,17	1,20 ± 1,81	6,63 ± 1,25
3199	dontriacontano	2,72 ± 0,01	1,19 ± 0,01	0,39 ± 0,11	4,41 ± 0,42	2,08 ± 0,48
3245	5-metildontriacontano	0,90 ± 0,03	1,66 ± 0,18	0,64 ± 0,01	5,12 ± 0,42	0,42 ± 0,31
3275	3-metildotriacontano	0,04 ± 0,01	1,66 ± 0,03	0,17 ± 0,21	7,07 ± 0,13	2,54 ± 0,05
3298	tritriacontano	3,91 ± 0,02	2,93 ± 0,01	5,23 ± 0,39	7,44 ± 0,04	8,09 ± 0,95
3324	11-metiltritriacontano	0,22 ± 0,01	4,37 ± 0,14	2,27 ± 0,12	8,24 ± 0,03	6,94 ± 1,80
3351	5-metiltritriacontano	0,19 ± 0,03	1,26 ± 0,12	0,02 ± 0,00	2,93 ± 0,06	1,26 ± 0,49
3356	4-metiltritriacontano	0,22 ± 0,03	0,30 ± 0,00	0,02 ± 0,00	1,05 ± 0,03	0,60 ± 0,60
3400	tetatriacontano	0,27 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	7,61 ± 2,49	0,08 ± 0,00
3466	4-metiltetatriacontano	0,17 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,02 ± 0,00	5,57 ± 0,08	0,67 ± 0,11
3494	pentatriacontano	0,34 ± 0,03	0,07 ± 0,01	1,44 ± 0,61	4,45 ± 0,12	6,63 ± 0,14
3543	7-metilpentatriacontano	0,08 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,17 ± 0,01	4,88 ± 0,14	8,23 ± 1,96
3594	hexatriacontano	0,13 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,44 ± 0,06	0,46 ± 0,10

*Índice calculado (Van denDool&Kratz, 1963); ** M: Médias estagio e ninho, n=30; DP: desvio padrão.

Desta forma os resultados indicam que não há diferenças significativas entre os perfis químicos das amostras entre as diferentes colônias (Wilk`s Lambda: 0,985, o F: 0,014 e o P: 0,999) (Figura 3).

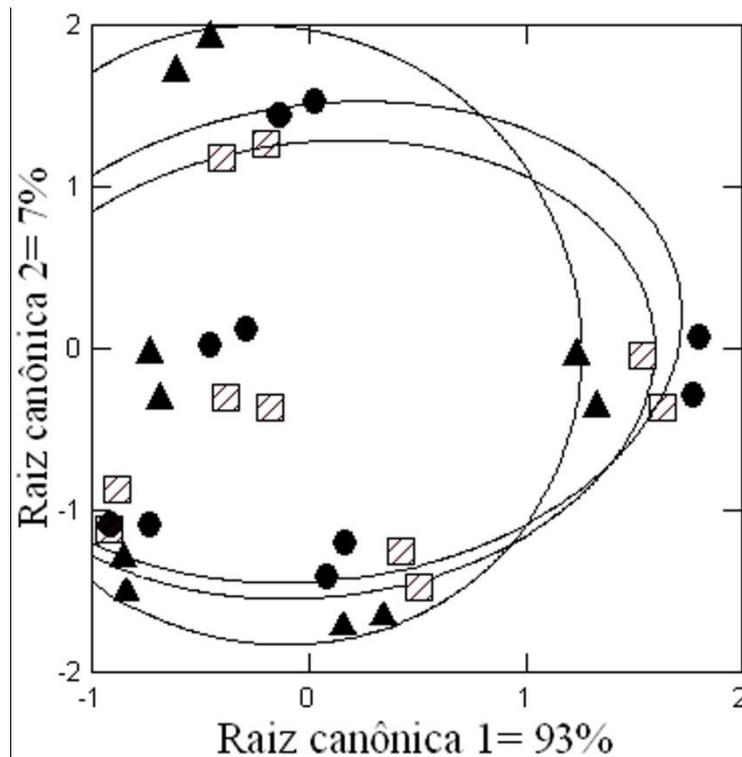


Figura 3: Análise discriminante empregando todos os compostos descritos entre as diferentes colônias. Colônia 1=●, Colônia 2=□, Colônia 3=▲. n=10

Isto pode ser explicado por que as colônias estavam nidificadas em sítios próximos da mesma área, podendo, portanto, guardar um grau de parentesco relativamente próximo entre elas, como sugerido também por Klahn & Gamboa, 1983, na vespa *Polistes fuscatus*. Outro fator que poderia influenciar essa similaridade seria a utilização dos mesmos recursos para manutenção das colônias, como sugerido no estudo de Cotoneschi *et al.* (2007) para vespa *Polistes dominula*. Ou ainda como descrito no estudo de Dapporto *et al.* (2004) com a vespa *P. dominula*, no qual observaram que a similaridade de composição química cuticular é maior entre colônias nidificadas em regiões mais próximas, do que aquelas nidificadas em regiões mais distantes.

A análise discriminante entre os estágios e o ninho demonstra que há diferenças significativas entre os perfis químicos de todos os estágios de desenvolvimento e do ninho com Wilk's Lambda: 0,000, F: 587,635 e $P < 0,001$. A soma das duas raízes explicam 100% dos dados, sendo que a primeira raiz explica 76% e a segunda raiz explica 24% (Figura 4). As diferenças entre os grupos ocorreram em função das diferenças quantitativas entre as amostras, uma vez que todos os compostos estão presentes em todos os estágios (Tabela 1).

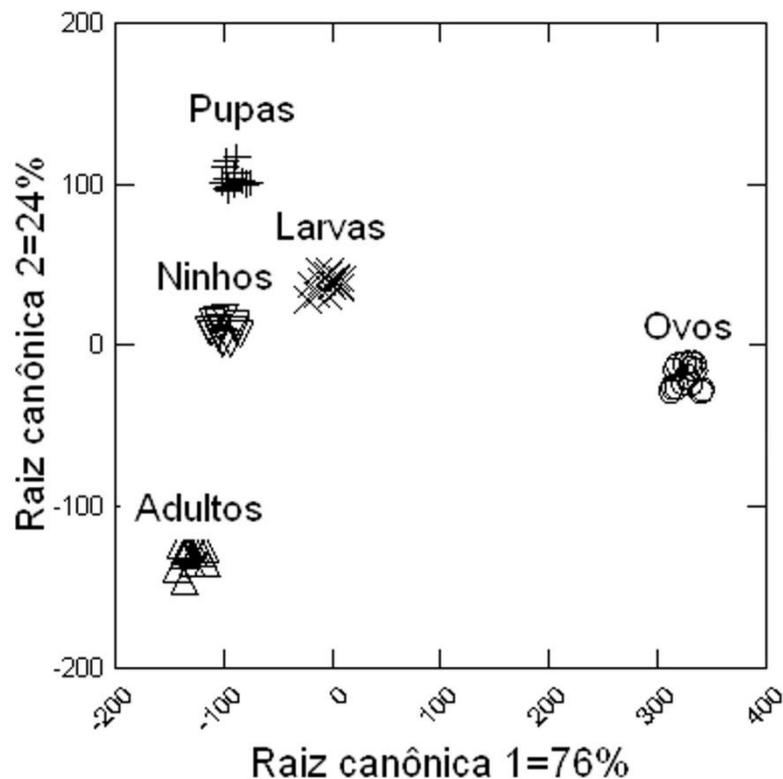


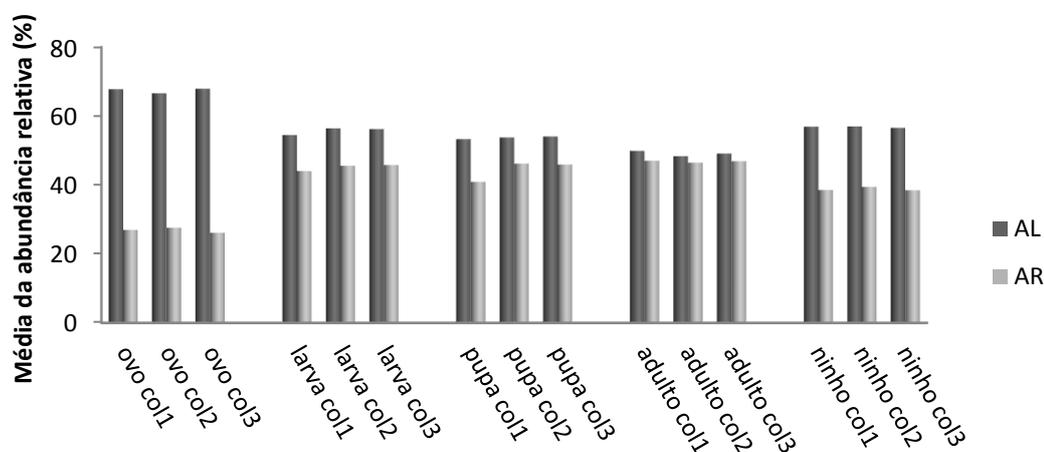
Figura 4: Análise discriminante empregando todos os compostos descritos nos estágios de desenvolvimento e nos ninhos em *P. exigua*, n= 30.

Os compostos mais importantes para separação dos grupos estão entre os alcanos tetradecano e nonadecano e são minoritários nas amostras. Estes dados diferem do estudo de Cotoneschi *et al.* (2007), que concluíram que os compostos majoritários são responsáveis para distinguir os diferentes estágios de desenvolvimento da vespa *P. dominula*.

Do total dos compostos identificados nos estágios de desenvolvimento e ninho 22 foram alcanos lineares e 19 alcanos ramificados. Os alcanos lineares totais apresentaram a maior abundância variando de 48% a 67% e os alcanos ramificados totais variaram de 26% a 47%. Houve um declínio no número de alcanos lineares entre os estágios de ovos e larvas, mantendo-se praticamente constantes nos estágios de larvas para os adultos, com abundância em torno de 50% (Figura 5).

A maior abundância de alcanos lineares no estágio de ovo, o que pode indicar uma necessidade maior de impermeabilização neste momento, uma vez que de acordo com alguns estudos (Gibbs, 1998; Gibbs, 2002) a função principal dos alcanos lineares é evitar a perda de água por desidratação em detrimento dos ramificados, cuja função seria a sinalização química propriamente dita (Brown *et al.*, 1991; Butts *et al.*, 1991; Espelie *et al.*, 1994; Gamboa *et al.*, 1996; Lorenzi *et al.*, 1997), ainda que estas

definições ainda não estejam plenamente esclarecidas (Tannure-Nascimento *et al.*, 2007).



col1: colônia 1; col2: colônia 2; col3: colônia 3

Figura 5: Percentuais das abundâncias totais dos alcanos lineares (AL) e alcanos ramificados (AR) separados por colônias de *P. exigua*.

Nos ovos destacaram-se como compostos majoritários o heptacosano, nonacosano, hentriacontano e 10-metiloctacosano (Tabela 1). O mesmo ocorrendo em *Vespula vulgaris* (Bonckaert *et al.*, 2012) em que estes mesmos compostos também foram os que se destacaram neste estágio em ovos de rainhas.

Nas larvas os compostos majoritários foram o pentacosano, heptacosano, nonacosano e 9-metilhentriacontano (Tabela 1). Em larvas de *P. dominula* os alcanos lineares heptacosano, nonacosano, triacontano e hentriacontano foram os compostos que mais se destacaram e, inclusive são aqueles que podem sinalizar o sexo a partir do estágio larval (Cotoneschi *et al.*, 2009).

Nas pupas os compostos majoritários foram o heptacosano, 9-metilhentriacontano e 7-metilhentriacontano (Tabela 1). Em relação à composição de pupas no estudo de Brown *et al.* (1991) mostra que o heptacosano, o nonacosano e o hentriacontano foram os mais abundantes neste estágio.

Nos adultos os compostos majoritários foram os 9-metilhentriacontano, tritriacontano, 11-metiltritriacontano e o tetratriacontano (Tabela 1). Gamboa *et al.*, (1996) identificaram alcanos ramificados, sendo estes o 15-metilhentriacontano e o 13,

15, 17-metiltritriacontano denominados sinais responsáveis para o reconhecimento nos adultos em colônias de *P. fuscatus*.

Ao longo dos estágios de desenvolvimento, houve um aumento na abundância dos alcanos ramificados de cadeias maiores que 31 carbonos, em torno de 7% a 10%, sobretudo nos adultos e no material do ninho (Tabela 1). Brown *et al.* (1991) estudando a vespa *V. germanica*, identificou os alcanos ramificados de cadeias carbônicas menores nos estágios imaturos comparados aos adultos apresentam maior abundância de compostos com cadeia carbônica de 29 a 37 carbonos.

Os compostos de cadeias carbônicas menores, do heptacosano ao hentriacontano (11-19%) foram mais abundantes em imaturos e os de cadeias carbônicas maiores que o hentriacontano (7-8%) em adultos (Tabela 1). Esses resultados corroboram aos encontrados por Cotoneschi *et al.* (2007) entre larvas e adultos da vespa *P. dominula*.

De fato estas diferenças encontradas entre os perfis químicos entre os imaturos, incluindo as larvas, e adultos podem ser explicadas pela diferença de alimentação entre estes estágios, pois as larvas se alimentam mais de proteína e os adultos mais de carboidratos (néctar) (Cotoneschi *et al.*, 2007). Nos estudos com formigas *Linepithema humile* demonstram que ocorre variação do perfil químico em relação à dieta que pode influenciar no reconhecimento de companheiros (Liang & Silverman, 2000, Liang *et al.*, 2001, Buczkowski *et al.*, 2005).

De acordo com os resultados, pupas e larvas tem perfis químicos relativamente próximos na análise estatística (Figura 4). Este fato pode ter ocorrido pela pupa ser uma fase de desenvolvimento em que não recebe alimento, utilizando suas reservas acumuladas durante fase larval (Brown *et al.*, 1991). A proximidade obtida entre pupas, larvas e o ninho pode ser atribuída ao contato durante o seu desenvolvimento (Signorotti *et al.*, 2014).

Nos ninhos os compostos majoritários foram o heptacosano, hentriacontano, 9-metilhentriacontano, tritriacontano e 7-metilpentatriacontano. Os compostos do ninho apresentam características qualitativas e quantitativas similares em relação aos adultos. No estudo de Espelie & Hermann (1990) os perfis químicos do ninho e adultos de *Polistes annularis* também foram similares. O perfil colonial é somente definido no adulto após alguns dias ou horas de emergência (Lorenzi *et al.*, 2004), pois esses indivíduos executam o comportamento de esfregar seu gáster na superfície do ninho e,

mesmo em outros indivíduos, adquirem e transferem compostos entre eles o que influenciam na caracterização do perfil químico (Dani *et al.*, 1992; Lorenzi *et al.*, 2007; Neves *et al.*, 2013). Portanto, como já discutido em alguns trabalhos (Klahn & Gamboa, 1983; Espelie & Hermann, 1990; Brown *et al.*, 1991; Sumana *et al.*, 2005; Cotoneschi *et al.*, 2007; Lorenzi *et al.*, 2007; Neves *et al.*, 2013), há uma relação clara entre o perfil químico do ninho e os membros da colônia, sobretudo os adultos.

Variação da composição química dos compostos apolares do veneno em relação a idade de operárias da vespa *P. exigua*.

Este é o primeiro estudo de composição da porção apolar do veneno de *P. exigua*. Porém na literatura existem estudos com outras espécies de vespa da subfamília *Polistinae* (Sledge *et al.*, 1999; Dani *et al.*, 2000, Fortunato *et al.*, 2004, Bruschini *et al.*, 2006) e também em outras vespas da subfamília *Stenogastrinae* (Dani *et al.*, 1998), evidenciando que os compostos voláteis identificados são responsáveis por função de alarme (Bruschini *et al.*, 2006).

Nos resultados foram obtidos 85 picos nas amostras de veneno analisadas sendo possível a identificação de 35 compostos. Estes compostos representam mais de 80% do percentual de abundância total das amostras. O veneno apresentou diferença qualitativa e quantitativa entre as idades das operárias analisadas (Tabela 2, Figura 6).

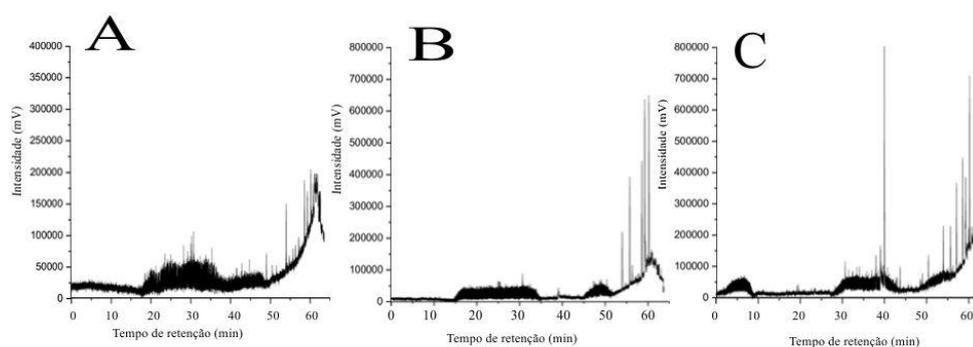


Figura 6: Cromatogramas representativos de veneno de operárias em diferentes idades da vespa *P. exigua*. A: Jovem; B: Intermediária; C: Velha.

Os compostos identificados pertencem às classes de alcanos lineares, alcanos ramificados, alcenos e ésteres (Tabela 2). Estes variaram de acordo com a idade sendo que foram identificados maior número de alcanos no veneno de operárias mais jovens, os alcenos maior número no veneno de operárias de idade intermediária e os ésteres foram identificados apenas no veneno de operárias mais velhas, evidenciando que com o aumento da idade ocorreu tanto aumento do número de compostos identificados no veneno e também o aparecimento de diferentes classes de compostos.

Em relação das idades os compostos majoritários no veneno de operárias mais jovens foram o heptacosano, o nonacosano, 11-metilnonacosano e 3-metilnonacosano. Estes alcanos, com exceção do heptacosano, estavam presentes em todas as idades como majoritários. A partir da idade intermediária o veneno das operárias apresentou entre os compostos majoritários a presença do alceno, o 1-octacoseno. Nas operárias categorizadas como velhas, o veneno apresentou dois ésteres, sendo um majoritário o 9-metil-nonanoato (Tabela 2).

De fato, os ésteres são compostos facilmente volatizáveis que podem fazer parte dos feromônios de alarme que são encontrados nos veneno de vespas sociais (Fortunato *et al.*, 2004; Bilen, 2008). Em estudo do veneno de vespas foram identificados ésteres após perturbações nas colônias sendo liberados como sinais de alarme para outros companheiros, como estratégias de defesa (Veith *et al.*, 1984), ainda estes compostos foram responsáveis como sinais de comunicação (Bruschini *et al.*, 2006). No estudo de Fortunato *et al.* (2004) alguns ésteres e alcanos lineares de 13, 14 e 25 carbonos e um alcano ramificado também foram identificados no veneno de vespas do gênero *Ropalidia*. Alcanos de cadeias lineares foram identificados em colônias de *Vespa orientalis* com cadeias de 10 a 34 carbonos (Saslavsky, 1973). Alcanos lineares e alcenos foram identificados nos estudos de Sledge *et al.* (1999) na espécie de vespa *Polybioides raphysgatra* com cadeias de 11 a 18 carbonos. No estudo de Dani *et al.* (1998) com veneno de 7 espécies diferentes da subfamília Stenogastrinae foram identificados hidrocarbonetos com cadeias entre 11 a 17 carbonos. O estudo 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 do seu desenvolvimento comportamental.

Estas variações da composição química do veneno provavelmente estão relacionadas à função que a fêmea exerce na colônia. Estudos de Giannotti (1997), Zara & Balestieri (2000) e Torres *et al.* (2013) com de vespas do gênero *Polistes* comprovam que há um polietismo temporal relativamente claro na casta operária nas espécies estudadas que deve existir entre a idade da operaria e a tarefa por ela desenvolvida.

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 (Giannotti, 1997; Zara & Balestieri, 2000 e Torres *et al.*, 2013). Vespas mais velhas, portanto podem apresentar composição do veneno mais complexa, pois neste momento que elas precisam de fato, usa-lo.

Tabela 2: Composição química de compostos apolares do veneno de *P. exigua* identificados em diferentes idades por CG-EM

Índice*	Compostos	M(%) ± DP**		
		Jovem	Intermediária	Velha
1900	nonadecano	0,12±0,01	0,14±0,01	0,12± 0,01
1932	9-metilnonadecano	0,51±0,01	—	0,09±0,01
1982	2,3-dimetilnonadecano	0,56±0,01	0,39±0,01	0,16±0,01
1998	eicosano	1,48±0,02	—	0,11±0,01
2100	heneicosano	—	0,1±0,01	0,14±0,01
2149	9 etil-octadecenoato	—	—	0,16±0,01
2171	9-metil-nonanoato	—	—	20,13±0,08
2199	docosano	—	0,17±0,01	0,25±0,01
2275	1-tricoseno	—	—	0,83±0,01
2300	tricosano	—	0,22±0,01	1,70±0,01
2385	1-tetracoseno	—	0,16±0,01	0,34±0,01
2400	tetracosano	—	0,18±0,01	0,23±0,01
2433	11-metiltetracosano	—	0,09±0,01	—
2487	1-pentacoseno	—	0,24±0,01	0,15±0,01
2501	pentacosane	5,33±0,03	0,97±0,01	0,87±0,01
2575	3-metil-pentacosano	—	0,12±0,01	0,20±0,01
2601	hexacosane	1,77±0,02	0,50±0,01	0,31±0,01
2699	heptacosano	13,03±0,03	5,77±0,07	3,62±0,02
2732	11,15-dimetilheptacosano	3,10±0,02	0,43±0,01	0,32±0,01
2742	11-metilheptacosano	—	—	0,13±0,01
2751	5-dimetilheptacosano	—	0,33±0,01	0,32±0,01
2775	1-octacoseno	2,87±0,01	11,02±0,06	3,89±0,02
2801	octacosano	2,86±0,02	1,69±0,02	0,62±0,01
2832	11-metiloctacosano	0,90±0,01	0,56±0,01	0,14±0,01
2837	10-metiloctacosano	4,53±0,02	0,42±0,01	6,46±0,03
2860	6-metiloctacosano	—	0,70±0,01	0,30±0,01
2875	3-metiloctacosano	—	0,57±0,01	0,35±0,01
2900	nonacosano	13,15±0,06	11,51±0,06	7,98±0,05
2932	11-metilnonacosano	11,04±0,03	22,59±0,08	7,81±0,05
2952	6-metilnonacosano	—	1,10 ± 0,01	0,82±0,01

2966	2-metilnonacosano	—	1,13±0,01	2,23±0,01
2975	3-metilnonacosano	11,50±0,05	18,8±0,08	13,21±0,05
2984	1-triaconteno	2,16±0,02	0,94±0,01	0,46±0,01
3000	triacontano	5,63±0,04	0,83±0,01	3,47±0,02
Total	Identificados	82,54	81,97	78,10
	Não identificados	16,88	18,19	21,97

* Índice calculado (Van den Dool & Kratz, 1963);** M: Médias idades, n=9; DP: desvio padrão.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados, os compostos químicos cuticulares dos diferentes estágios de desenvolvimento e do ninho de *P. exigua*, são iguais em termos qualitativos e diferentes em termos quantitativos, mostrando que estes compostos devem ser usados como sinais para o reconhecimento de coespecíficos nas colônias. Por outro lado a variação destes compostos entre diferentes colônias não é significativa, embora este fato, provavelmente esteja relacionada a nível de parentesco entre elas e também porque compartilham os mesmos recursos.

Os compostos apolares do veneno variaram significativamente de acordo com a idade das operárias, provavelmente em função do tipo de tarefa executada por elas, sendo que há um claro aumento da complexidade dos compostos a medida que as vespas ficam mais velhas, quando elas, de fato, executam tarefas de maior risco e ou que refletem a maior necessidade do uso do veneno, como a atividade de forrageamento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Orlando Tobias Silveira pela identificação da espécie. Agradeço a CAPES, FUNDECT e CNPq.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, M. F.; MORGAN, D. Chemical communication in insect communities: a guide to insect pheromones with special emphasis on social insects. **Biological Reviews**, v.65, n.3, p.227-247, 1990.

BICHARA-FILHO, C. C. Aspectos da biologia e ecologia de *Polybia (Trichothorax) sericea* (Olivier, 1791) (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini) no semi-árido baiano.

120p. Tese (Doutorado em Ciências, Área Entomologia) – FFCLRP-USP, Ribeirão Preto, 2003.

BILLEN, J. A importância de glândulas exócrinas na sociedade de insetos. In: VILELA, E. F. et. al.(Eds.). **Insetos Sociais: da Biologia à Aplicação**. Viçosa: UFV, 2008. p. 87-92.

BILLEN, J.; MORGAN, E. David. Pheromone communication in social insects – sources and secretions. In: VANDER MEER, R. K. et. al. (Eds.). **Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees, and termites**. Boulder: Westview, 1998. p.3-33.

BLOMQUIST, G. J.; BAGNÈRES, A-G. Introduction: history and overview of insect hydrocarbons. In: BLOMQUIST, G. J.; BAGNÈRES, A-G. **Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology**. New York: Cambridge University Press, 2010. p.3-18.

BONCKAERT, W.; DRIJFHOUT, F. P.; D'ETTORRE, P.; BILLEN, J.; WENSELEERS, T. Hydrocarbon signatures of Egg Maternity, Caste Membership and Reproductive Status in the Common Wasp. **Journal of Chemical Ecology**, v.38, n.1, p.42-45, 2012.

BROWN, W.V.; SPRADBERRY, J.P.; LACEY, M.J. Changes in cuticular hydrocarbon composition during development of the social wasp, *Vespula germanica* (F) (Hymenoptera: Vespidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.99B, n.3 p.553-562, 1991.

BRUSCHINI, C; DANI, F. R.; PIERACCINI; G.; GUARNA, F.; TURILLAZZI S. Volatiles from the venom of five species of paper wasps (*Polistes dominulus*, *P. gallicus*, *P. nimphus*, *P. sulcifer* and *P. olivaceus*). **Toxicon**, v.47, n. 1, p.812-825, 2006.

BUCZKOWSKI, G.; KUMAR, R.; SUIB S.L.; SILVERMAN, J. Diet-related modification of cuticular hydrocarbon profiles of the argentine ant, *Linepithema humile*, diminishes intercolony aggression. **Journal of Chemical Ecology**, v.31, n.4, p.829-843, 2005.

BUTTS, D. P.; ESPELIE, K. E.; HERMANN, H. R. Cuticular hydrocarbons of four species of social wasps in the subfamily vespinae: *Vespa crabro*, *do Lichovespula Maculata*, *Vespula squamosa* (Drury), and *Vespula maculifrons* (Buysson). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.99, n.1, p. 87-91, 1991.

CASEWELL, N.R.; WUSTER, W.; VONK, F.J.; HARRISON, R.A.; FRY, B.G. Complex cocktails: the evolutionary novelty of venoms. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 28, n. 4, p. 219-219, 2013.

COTONESCHI, C.; DANI, F. R.; CERVO, R.; SLEDGE, M. F.; TURILLAZZI, S. *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) larvae possess their own chemical signatures. **Journal of Insect Physiology**, v.53, n.9, p.954–963, 2007.

COTONESCHI, C., DANI, F. R., CERVO, R., SCALA, C., STRASSMANN, J. E., QUELLER, D. C., TURILLAZZI, STEFANO. *Polistes dominulus* (hymenoptera, vespidae) larvae show different cuticular patterns according to their sex: workers seem not use this chemical information. **Chemical Senses**, v.34, n.3, p. 95-202, 2009.

D'ETTORRE, P.; MOORE, A.J. Chemical communication and the coordination of social interactions in insects. In: D'Ettore, P.; Hughes, D.P. **Sociobiology of Communication**, Oxford: A. Oxford University Press, 2008. p.81-117.

DANI, F.R.; CERVO, R.; TURILLAZZI, S.. Abdomen stroking behaviour and its possible functions in *Polistes dominulus* (Christ) (Hymenoptera, Vespidae). **Behavioural Processes**, v.38, n.1-2, p.51-58, 1992.

DANI, F. R; MORGAN, E. D.; JONES, G. R; TURILLAZZI, S.; CERVO, R.; FRANCKE, WITTKO. Species-specific volatile substances in the venom sac of hover wasps. **Journal of Chemical Ecology**, v.24, n. 6, p.1091-1104, 1998.

DAPPORTO, L.; THEODORA, P.; SPACCHINI, C.; PIERACCINI, G.; TURILLAZZI, S. Rank and epicuticular hydrocarbons in different populations of the paper wasp *Polistes dominulus* (Christ) (Hymenoptera, Vespidae). **Insectes Sociaux**, v.51, n.1, p. 279–286, 2004.

DENIS, D.; BLATRIX, R.;FRESNEAU, D.. How an ant manages to display individual and colonial signals by using the same channel. **Journal of Chemical Ecology**, v.32, p.1647-1661, 2006.

EDWARDS, R. **Social wasps: their biology and control**. Great Britain: Rentokil Ltda, 1980. 397p.

ESPELIE, K.E.; HERMAN, H. E. Surface Lipids of the social wasp *Polistes anullaris* (L.) and its nest and nest pedicel. **Journal of Chemical Ecology**, v.16, n.6, p. 1841-1852, 1990.

ESPELIE, K. E.; GAMBOA, G. J.; GRUDZIEN, T. A.; BURA, E. A.. Cuticular hydrocarbons of the paper wasp, *Polistes fuscatus*: a search for recognition pheromones. **Journal of Chemycal Ecology**, v-20, n.7, p.1677–1687, 1994.

FORTUNATO, A.; DANI, F.R.; SLEDGE, M.F.; FONDELLI, L.; TURILLAZZI, S. Alarm communication in *Ropalidia* social wasps. **Insectes Sociaux**, v.51, n.3, p.299–305, 2004.

GAMBOA, G. J.; GRUDZIEN, T. A.; ESPELIE, K.; BURA, E. A. Kin recognition pheromones in social wasps: combining chemical and behavioural evidence. **Animal Behavior**, v. 51, n.3, p. 625-629, 1996.

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

- GIBBS, A. G.. Water-proofing properties of cuticular lipids. **American Zoologist** v.38, p. 471-482, 1998.
- GIBBS, A.G. Lipid melting and cuticular permeability: A new insights into an old problem. **Journal of Insect Physiology**, v.48, p. 391–400, 2002.
- GOODPASTER, A. M.; KENNEDY, M. A. Quantification and statistical significance analysis of group separation in NMR-based metabonomics studies. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.109, n.2, p.162–170, 2011.
- GRUNSHAW J. P.; GUERMOUCHE H.; GUERMOUCHE S.; JAGON. D.; JULLIEN R.; KNOWLES E.; PEREZ F. Chemical taxonomic studies of cuticular hydrocarbons in Polistes cuticular hydrocarbons Locusts of the *Schistocerca americana* complex: chemical relationships between new world and old world species. **Journal of Chemical Ecology**, v.16, p.2835-2858, 1990.
- HUNT, J. H.; KENSINGER, B. J.; KOSSUTH, J. A.; HENSHAW, M. T.; NORBERG, K.; WOLSCHIN, F.; AMDAM, G. V. A diapause pathway underlies the gyne phenotype in Polistes wasps, revealing an evolutionary route to caste-containing insect societies. **Proceedings of the National Academy of Sciences August**, v.104, n.35, 2007.
- JEANNE, R. L.; DOWNING, H. A.; POST, D. C. Age polyethism and individual variation in *Polybia occidentalis*, an advanced eusocial wasp. In: JEANNE, R. L. (Ed.). **Interindividual behavioral variability in social insects**. Colorado: Westview Press, 1988. p.323-357.
- KLAHN, J.E., GAMBOA, G.J., Social wasps: discrimination between kin and nonkin brood. **Science**, v.221, n.4609, p. 482-484, 1983.
- KRASNEC, M.O.; BREED, M. D. Colony-Specific Cuticular hydrocarbon profile in *Formica argentea* Ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 39,n.1, p.59–66, 2013.
- LANGE C., BASSELIER J. J., BAGNERES A. G., ESCOUBAS P., LEMAIRE M., LENOIR A., CLEMENT J. L., BONAVIDACOUROURDAN A., TRABALON M. AND CAMPAN M. Strategy for the analysis of cuticular hydrocarbons waxes from insects using gas chromatography/mass spectrometry with electron impact and chemical ionization. **Biomedical & Environmental Mass Spectrometry**, v.18, n.9, p.787-800, 1989.
- LIANG, D.; BLOMQUIST, G.J.; SILVERMAN, J. Hydrocarbon-released nestmate aggression in the Argentine ant, *Linepithema humile*, following encounters with insect prey. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.129, n.4, p. 871-882, 2001.
- LIANG, D.; SILVERMAN, J. “You are what you eat”: Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. **Naturwissenschaften**, v.87, n.9, p. 412–416, 2000.

LIN, C.H.; TZENB, J.T.C; SHYUC, C.L.; YANG, M. J; TU, W. C. Structural and biological characterization of mastoparans in the venom of *Vespa* species in Taiwan. **Peptides**, v.32, p.2027-2036, 2011.

LORENZI M.-C.; BAGNÈRES A.-G.; CLÉMENT J.-L; TURILLAZZI S.. *Polistes biglumis bimaculatus* epicuticular hydrocarbons and nestmate recognition (Hymenoptera: Vespidae). **Insectes Sociaux**, v.44, p.123-138, 1997.

LORENZI, M.C.; SLEDGE, M.F.; LAIOLO, P.; STURLINI, E., TURILLAZZI, S. Cuticular hydrocarbon dynamics in young adult *Polistes dominula* (Hymenoptera: Vespidae) and the role of linear hydrocarbons in nestmate recognition systems. **Journal of Insect Physiology**, v.50, n.10, p.935-941, 2004.

LORENZI, M. C.; CALDI, M.; CERVO, R.. The chemical strategies used by *Polistes nimphus* social wasp usurpers (Hymenoptera Vespidae), **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 91, n.3, p.505-512, 2007.

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

MACHADO, V. L. L. Estudos Bioquímicos e Microbiológicos do Tubo Digestivo de *Protopolybia exigua* (Saussure, 1854). **Revista Brasileira da Biologia**, v. 35, n.1, p. 83-86, 1975.

MENDES M.A.; SOUZA, B.M.; PALMA, M.S. Structural and biological characterization of three novel mastoparan peptides from the venom of the neotropical social wasp *Protopolybia exigua* (Saussure). **Toxicon**, v.45, n.1, p.101-6., 2005.

MENDES, M. A.; PALMA, M. S. Two new bradykinin-related peptides from the venom of the social wasp *Protopolybia exigua* (Saussure). **Peptides**, v.27, n.11, p. 2632-9, 2006.

NELSON D. R.; CARLSON D. A. Cuticular hydrocarbons of the tsetse flies *Glossina morsitans morsitans*, *G. austeni* and *G. pallidipes*. **Insect Biochemistry**, v.16, n.2, p.403-416, 1986.

NEVES, E.F.; MONTAGNA, T. S.; ANDRADE, L. H. C. SÚAREZ, Y. R, LIMA, S. M. ANTONIALI JUNIOR, W. F. Social Parasitism and Dynamics of Cuticular Hydrocarbons in Paper Wasps of the Genus *Mischocyttarus*. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.86, n.1, p.69-77, 2013.

PACALA, S. W., GORDON, D. M., & GODFRAY, H. C. Effects of social group size on information transfer and task allocation. **Evolutionary Ecology**, v.10, p. 127-165, 1996.

PAGE M.; NELSON L. J.; HAVERTY M. I.; BLOMQUIST G. J. Cuticular hydrocarbons of eight species of North American Cone Beetles, *Conophthorus* Hopkins. **Journal Chemical Ecology**, v.16, n. 4, p. 1173-1198, 1990.

PALMA, M. S. Insect Venom Peptides. In: *Kastin A.J. (Org.).The Handbook of Biologically Active Peptides*. Oxford: Ed. Academic Press, 2006. p.409-416.

PANEK, L.M.; GAMBOA, G.J.. Queens of the paper wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae) discriminate among larvae on the basis of relatedness. **Ethology**, v.106, n.2, p. 159-170, 2000.

POST, D. C.; JEANNE. R. L. Colony defense again starts by *Polistes fuscatus* (Hymenoptera:Vespidae) in Wisconsin. **Journal of the Kansas Entomology Society**, v.54, n.3, p. 599-615, 1981.

RICHARD, F.-J.; HUNT, J. H. Intracolony chemical communication in social insects.**Insectes Sociaux**, v. 60, n. 3, p. 275–291, 2013.

RICHARDS, O. W..The biology of social wasps (Hymenoptera; Vespidae).**Biological Reviews**, v.46,p.483–528, 1971.

ROCHA, A. A.; GIANNOTTI, E.Foraging Activity of *Protopolybia exigua* (Hymenoptera, Vespidae) in Different Phases of the Colony Cycle, at an Area in the Region of the Médio São Francisco River, Bahia, Brazil. **Sociobiology**, v.50, n.3, p.813-831, 2007.

ROCHA, A. A.; GIANNOTTI, E.; BICHARA-FILHO, C. C.. Resources taken to the nest by *Protopolybia exigua* (hymenoptera, vespidae) in different phases of the colony cycle, in a region of the médio São Francisco river, Bahia, Brazil. **Sociobiology**, v. 54, n.2, p. 439-456, 2009.

SASLAVASKY, H.; ISHAY, J.; IRAN, R.. Alarm substances as toxicants of oriental hornet, *Vespa orientalis*. **Life Sciences**, v. 12, n.3, p.135-144, 1973.

SIGNOROTTI, L.; CAPPALÀ, F.; D'ETTORRE, P.; CERVO, R. Novel Insights into the Ontogeny of Nestmate Recognition in *Polistes* Social Wasps. **Plos One**, v. 9, n.5, p. 1-7, 2014.

SLEDGE, M.F.; DANI, F. R.; FORTUNATO, A.; MASCHWITZ, U.; CLARKE, S. R.; FRANCESCATO, E.; HASHIM, R.; MORGAN, E. D.; JONES, G. R. ; TURILLAZZI, S. Venom induces alarm behaviour in the social wasp *Polybioides raphigastra* (Hymenoptera: Vespidae): an investigation of alarm behaviour, venom volatiles and sting autotomy. **Physiological Entomology**, v.24, n.3, p.234-239, 1999.

SOUZA, B. M.; MENDES, M. A, SANTOS, L. D.; MARQUES, M. R., CESAR, L. M.M., ALMEIDA, ROBERTA N.A., PAGNOCCA, F.C. Structural and functional characterization of two novel peptide toxins isolated from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. **Peptides**, v.26, p. 2157-2164, 2005.

SUMANA, A.; LIEBERT, A.E.; BERRY, A.S.; SWITZ, G.T.; ORIANI, C.M. ; STARKS, P.T.; Nest hydrocarbons as cues for philopatry in a paper wasp. **Ethology**, v.111, n.5, p.469-477, 2005.

SUZUKI, T. Area, efficiency and time of foraging in *Polistes chinensisantennalis* Pérez (Hymenoptera: Vespidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.28, p.179-189, 1978.

TANNURE-NASCIMENTO, I.C.; NASCIMENTO, F.S.; TURATTI, I.C.; LOPES, N.P.; TRIGO, J.R.; ZUCCHI, R. Colony membership is reflected by variations in cuticular hydrocarbon profile in a Neotropical paper wasp, *Polistes satan* (Hymenoptera, Vespidae). **Genetics and Molecular Research**, v.6, n.2, p.390-396, 2007.

TORRES, V.O.; GIANNOTTI, E.; ANTONIALLI-JUNIOR, W. F. Temporal Polyethism and Life Expectancy of Workers in the Eusocial Wasp *Polistes canadensis canadensis* Linnaeus (Hymenoptera: Vespidae). **Sociobiology**, v.60, n.1, p.107-113, 2013.

TORRES, V. O.; MONTAGNA, T. S.; RAIZER, J.; ANTONIALLI-JUNIOR, W. F. Division of labor in colonies of the eusocial wasp, *Mischocyttarus consimilis*. **Journal of Insect Science**, v.12, n.1, p.1-15, 2012.

TRIOLA, M. F. **Introdução à estatística**. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 452 p.

UÇKAN, F.; ERGIN, E.; RIVERS, D. B.; GENÇER, N. Age and Diet Influence the Composition of Venom From the Endoparasitic Wasp *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 63, p.177-187, 2006.

VAN DEN DOOL H, KRATZ, P D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal Chromatograph**, v.11, p. 463-471, 1963.

VEITH, H. J.; KOENIGER, N.; MASCHWITZ, U. 2-methyl-3butene-1-ol, a major component of the alarm pheromone of the hornet, *Vespa crabro*. **Naturwissenschaften**, v. 71, p. 324-327, 1984.

VIEIRA, E. O.; PRATES, H. T.; PEREIRA, J.R. B.; SILVA, G. F.; DUARTE, F. V.; NERES, P. M. Avaliação da contaminação do carbofuran nos solos do Distrito de Irrigação do Gorutuba. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, n.3, p.250–256, 2009.

VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas**. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos, 2001. 206p.

WEST-EBERHARD, M. J. Monogyny in *polygynous* social wasps. **Proceedings of the VII Congress of I.U.S.S.I.** London, 1973, 396-403p.

ZARA, F.J.; BALESTIERI, J.B.P. Behavioural catalogue of *Polistes versicolor* Olivier (Vespidae: Polistinae) post-emergence colonies. **Naturalia**, v.25, p. 301-319, 2000.