

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E EVOLUÇÃO

ASPECTOS DA BIOLOGIA, ESTRUTURA POPULACIONAL E PARENTESCO
INTRANIDAL EM VESPAS DO GÊNERO *TRYPOXYLON*
(HYMENOPTERA: SPHECIDAE)

RUI CARLOS PERUQUETTI

SÃO CARLOS - SP
2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E EVOLUÇÃO

**ASPECTOS DA BIOLOGIA, ESTRUTURA POPULACIONAL E PARENTESCO
INTRANIDAL EM VESPAS DO GÊNERO *TRYPOXYLON*
(HYMENOPTERA: SPHECIDAE)**

RUI CARLOS PERUQUETTI

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Evolução do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências (Ciências Biológicas), área de concentração: Genética e Evolução.

SÃO CARLOS - SP
2003

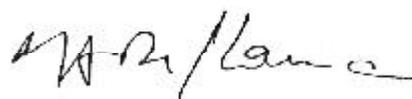
Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar

Peruquetti, Rui Carlos.
P471ab Aspectos da biologia, estrutura populacional e
parentesco intranidal em vespas do gênero *Trypoxylon*
(Hymenoptera: Sphecidae) / Rui Carlos Peruquetti . -- São
Carlos : UFSCar, 2003.
59p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2003.

1. Apoidea. 2. Parentesco genético. 3. Razão sexual. 4.
Alocação sexual. I. Título

CDD: 595.799 (20ª)

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'MAD/Lama', positioned above a horizontal line.

Prof. Dr. Marco Antônio Del Lama
Orientador

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao Prof. Marco Antônio Del Lama pela oportunidade oferecida e amizade. Aos Profs. Lucio A. O. Campos e Angélica Maria Penteadó Martins Dias pela leitura do projeto de pesquisa e sugestões. E aos Profs. Evandro Camillo e Manoel Martins Dias pelas sugestões oferecidas.

Ao Prof. Sérgio T. P. Amarante pela identificação das espécies de *Trypoxylon*, esclarecimentos sobre a biologia e sistemática do grupo, leitura do projeto de pesquisa e pelas sugestões e comentários oferecidos.

Ao Dr. Antônio D. Brescovit pela identificação das aranhas coletadas por *Trypoxylon rogenhoferi*.

À Patrícia S. Ferreira Peruquetti pelo auxílio durante as observações nas áreas de nidificação, constante incentivo e apoio. À Ana Carolina e Mylla pelos momentos de descontração.

Ao Prof. Alan Molumby por esclarecimentos sobre a biologia de *Trypoxylon politum* e sobre o uso de alguns procedimentos estatísticos.

Ao assessor anônimo da FAPESP, pela leitura dos relatórios de pesquisa e palavras de apoio e encorajamento.

À EMBRAPA (Faz. Canchim - São Carlos) pela permissão de coleta do material na área de sua responsabilidade e à Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, pela permissão de coleta de material biológico nas áreas da Estação Ecológica Jataí (Luís Antônio, SP).

À Isabel C. de Godoy pela ajuda no momento da realização das análises eletroforéticas. Ao Sr. Horário Gomes e Luiz Henrique da Silva (Piau) pela ajuda com os trabalhos de campo na Estação Ecológica Jataí.

Aos colegas, Cristiano Dosualdo Rocha, Iara Freitas Lopes, Iatiçara Oliveira da Silva, Daniele Boraschi, Caroline Vivian Gruber, Kátia Maria Ferreira, Nami C. Takahashi e Rogério Oliveira Souza pela amizade, convívio agradável e auxílio na realização do trabalho.

À FAPESP pela concessão de apoio financeiro (Processo no. 98/16390-0) e à UFSCar pela infra-estrutura oferecida.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Possíveis relações filogenéticas em Apoidea enfatizando os grupos de Sphecidae. A hipótese filogenética está de acordo com ALEXANDER (1992) com algumas das modificações sugeridas por MELO (1999). A presença de machos em ninhos é indicada por '♂' (dados de KYMSEY 1978, HOOK & MATTHEWS 1980, ANTROPOV 1990, MATTHEWS 1991, BANKS 1995 e BROCKMANN 1996). Entre parênteses estão nomes de gêneros onde o macho permanece no ninho enquanto a fêmea está fora. 'a' indica grupos onde o macho permanece no ninho e copula com a fêmea a cada retorno dela. 'b' grupos onde os machos mantêm território próximo ao ninho ativo, ou na própria entrada do ninho, e sempre copulam com a fêmea quando esta retorna ao ninho. 'c' grupos onde ocorrem associações entre fêmeas e os machos são tolerados nos ninhos (como ocorre nos grupos sociais de Apidae). Grupos com biologia pouco conhecida foram excluídos. 5
- Figura 2. Em *Trypoxylon (Trypargilum)* os machos atuam como guardas, como este (seta) de *T. rogenhoferi*. O macho deixa o ninho somente quando molestado ou para investir contra machos coespecíficos, parasitas e predadores..... 6
- Figura 3. Fêmea (♀) de *Trypoxylon rogenhoferi* chegando ao ninho. Muitas vezes a fêmea para na entrada do ninho para depois entrar nele (A). Neste momento machos (♂) que estão procurando ninhos vagos aproximam-se e muitas vezes copulam com a fêmea (B). Em (A e B) o guarda está no interior do ninho. 8
- Figura 4. Aranhas paralizadas em ninho de *Trypoxylon rogenhoferi*. Cada célula de cria recebe um número variável de aranhas, um ovo é depositado (seta) na última aranha depositada em cada célula de cria. F, fundo da célula onde a primeira aranha é depositada; E, parede de barro fechando a célula de cria.....12
- Figura 5. Ninhos de *Trypoxylon albitarse*. Cada tubo é subdividido formando células de cria em número variável..... 13
- Figura 6. Locais de amostragem dos ninhos de *Trypoxylon rogenhoferi*. (A) Fazenda Canchim (São Carlos, SP) e (B) Estação Ecológica Jataí (Luís Antônio, SP)..... 13

- Figura 7. Croqui dos locais de coleta dos ninhos de *Trypoxylon albitarse* na Fazenda Canchim (EMBRAPA, São Carlos). G1 a G5 mostram os galpões de ordenha da fazenda, onde havia vários ninhos presos às suas paredes. Ao todo foram escavados 187 ninhos, representando 2220 células. 14
- Figura 8. Macho de *Trypoxylon rogenhoferi* marcado com tinta à base de nitrocelulose (seta) e posteriormente liberado em área de nidificação. Diferentes combinações de cores e posições individualizam os espécimes capturados (B).....16
- Figura 9. Forma como os espécimes de *Trypoxylon rogenhoferi* foram sexados e medidos nas áreas de nidificação. (A) Espuma porosa usada para dar suporte aos espécimes enquanto eram imobilizados por uma lâmina de vidro (B)..... 17
- Figura 10. Três níveis da estatística-F obtidos do estudo eletroforético de alozimas de *Trypoxylon albitarse*. O comprimento dos retângulos indica os valores possíveis dos três parâmetros da estatística (eixo y), os símbolos representam os valores estimados. Os resultados mostram que o desvio da panmixia ($F_{IT} = 0,25$; significativamente diferente de zero; $F_{IT(IC95\%)} = 0,09$ a $0,41$) encontrado nesta espécie possivelmente está relacionado ao comportamento filopátrico, indicado pelo estimador F_{ST} ($0,10$; significativamente diferente de zero; $F_{ST(IC95\%)} = 0,03$ a $0,18$) e não a cruzamentos não-casualizados que poderiam ocorrer nas áreas de nidificação ($F_{IS} = 0,17$; estatisticamente igual a zero; $F_{IS(IC95\%)} = -0,05$ a $0,35$). Os intervalos de confiança de 95% foram calculados aplicando-se 'bootstrap' sobre locos. 23
- Figura 11. Dendrograma mostrando a relação entre as subpopulações de *Trypoxylon albitarse* amostradas em São Carlos. As relações estão baseadas na distância genética de NEI (1978) aplicando-se o método de UPGMA. Os valores na barra indicam a distância entre dois nós consecutivos, entre parênteses está a distância entre a população amostrada e seu nó de origem. 23
- Figura 12. Ninhos de *Trypoxylon albitarse*. Em (A) é possível observar a associação de duas fêmeas nidificantes: 1 (um ninho com um tubo) e 2 (um ninho com dois tubos). A coloração diferente do barro utilizado na construção de cada ninho é bom indicativo da associação (AMARANTE 1991a). Em (B) vê-se um ninho construído por uma única fêmea. Neste caso, a coloração diferente do barro ao longo do tubo (setas) indica que a fonte de substrato não era homogênea. 26
- Figura 13. Regressão linear mostrando a influência do diâmetro dos ninhos-armadilha utilizados em São Carlos (círculos preenchidos; linha sólida) e em Luís Antônio (quadrados; linha tracejada) sobre a razão sexual de *Trypoxylon rogenhoferi*. Em Luís Antônio o diâmetro dos ninhos utilizados influenciou a razão sexual ($y = -2,8x + 75,02$; $F = 5,89$; $gl = 35$; $p < 0,05$), o que não aconteceu em São Carlos ($y = -1,4x + 50,50$; $F = 2,39$; $gl = 35$; $p > 0,05$). Os dados de razão sexual foram transformados (arcoseno) para a análise. 28
- Figura 14. Gráficos mostrando a relação entre (A) o volume da célula de cria e o peso ao emergir e (B) o volume da célula de cria e o comprimento da asa anterior em *Trypoxylon rogenhoferi*. Círculos preenchidos indicam fêmeas; círculos vazios, machos. Regressões lineares significativas ($p < 0,05$) são indicadas pelas linhas sólidas (fêmeas) e tracejadas (machos). (A) Fêmeas: $y = 0,009x + 68,7$; $r = 0,29$; $F = 6,3$, $gl = 71$; $p < 0,05$. Machos: $y = 0,01x + 54,8$; $r = 0,34$; $F = 8,7$; $gl = 69$; $p < 0,001$. Os interceptos de fêmeas e machos diferem significativamente ($p < 0,05$). (B) Fêmeas: $y = 0,00052x + 10,94$; $r = 0,23$;

F = 24,6; gl = 106; p < 0,001. Machos: $y = 0,00033x + 10,49$; $r = 0,31$; F = 10,10; gl = 149; p < 0,01. Os interceptos de fêmeas e machos diferem significativamente (p < 0,05). Há correlação significativa entre o comprimento da asa anterior e o peso ao emergir tanto em fêmeas ($r = 0,77$; p < 0,05; gl = 118) quanto em machos ($r = 0,76$; p < 0,001; gl = 121). 29

Figura 15. Proporção de machos de *Trypoxylon rogenhoferi* produzidos em seis categorias de volume (mm³) de células de cria. Há correlação significativa entre a proporção de machos produzidos e o volume médio das células de cria (regressão logística; $y = \exp(-0,40x + 0,72) / [1 + \exp(-0,40x + 0,72)]$; $\chi^2_{(1)} = 9,70$; p < 0,01). Nas linhas, o ponto representa a proporção média de machos produzidos em cada volume e as barras o intervalo de confiança binomial de 95%. 30

Figura 16. Gráfico do comprimento da asa anterior materna versus o comprimento da asa da progênie feminina de *Trypoxylon rogenhoferi*. Os círculos representam médias. Os retângulos representam o erro padrão e as barras o desvio padrão (famílias com uma única filha são representadas apenas pelo círculo). Houve regressão linear significativa entre a média do comprimento das asas anteriores das filhas e o comprimento da asa anterior materna ($y = 0,73x + 2,99$; $r = 0,73$; gl = 11; p < 0,01), o que não aconteceu com a progênie masculina ($r = 0,21$; gl = 14; p = 0,44). Não houve relação entre os tamanhos das progênies feminina e masculina ($r = 0,003$; p = 0,99). 30

Figura 17. Relação entre a massa de aranhas capturadas por dia e o tamanho da fêmea (CAA) de *Trypoxylon rogenhoferi*. Fêmeas maiores capturam maior massa de aranhas quando comparadas às fêmeas menores ($y = 0,173x - 1,24$; $r^2 = 0,49$; F = 12,4; gl = 14; p < 0,01). A linha tracejada representa o intervalo de confiança de 95%. 31

Figura 18. Número de ninhos fundados por 23 fêmeas (A até X) de *Trypoxylon rogenhoferi* em São Carlos. A fecundidade observada (ninhos fundados) está ordenada de forma decrescente. 32

Figura 19. Três níveis da estatística-F obtidos do estudo eletroforético de alozimas de *Trypoxylon rogenhoferi*. O comprimento dos retângulos indica os valores possíveis dos três parâmetros da estatística (eixo y), os símbolos representam os valores estimados. 34

Figura 20. Espécime fêmea de *Alpaida veniliae*, espécie mais abundante entre as presas de *Trypoxylon rogenhoferi* de São Carlos (área agrícola) e de Luís Antônio (reserva ecológica). 37

Figura 21. Dados demográficos das aranhas capturadas por *Trypoxylon rogenhoferi* em área de Cerrado / Floresta semi-decídua (1347 indivíduos capturados) e em área agrícola (1609 indivíduos capturados). 38

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Tampões e condições das corridas eletroforéticas utilizados nas análises de *Trypoxylon albitarse* e *Trypoxylon rogenhoferi*. 18
- Tabela 2. Sistemas enzimáticos, sua classificação e abreviação de acordo com a “Enzyme Commission” (EC) e o sistema tampão (ver Tabela 1) utilizados nas análises eletroforéticas realizadas. ‘I’ indica resolução insatisfatória ou sistema de difícil determinação do padrão eletroforético; ‘S’ indica resolução satisfatória e ‘S*’ indica que apesar de satisfatório o sistema não foi amplamente utilizado pela baixa frequência de polimorfismo. Sistemas efetivamente utilizados são indicados por (A) para *T. albitarse* e (R) para *T. rogenhoferi*.. 18
- Tabela 3. Frequências alélicas (F, M, S e S+: mobilidade relativa) para cada loco polimórfico amostrado em *Trypoxylon albitarse*. Os indivíduos foram amostrados em ninhos naturais presentes em São Carlos (Faz. Canchim, EMBRAPA). ‘N’ = número de indivíduos (pupas) amostrados; ‘Hi’ = heterozigosidade intraloco observada, ‘P’ = grau de polimorfismo pelo critério de 99%; ‘H’ = heterozigosidade média observada (contagem direta); ‘A’ = número médio de alelos por locos. Apenas genótipos diplóides foram usados nos cálculos; ‘DP’ = desvio padrão. 22
- Tabela 4. Genética descritiva de *Trypoxylon albitarse* em diferentes pontos de amostragem em São Carlos (SP). Os galpões localizam-se na Fazenda Canchim (EMBRAPA) e a ponte está a 40Km dali. ‘n’, número de indivíduos (pupas de fêmeas) amostrados em cada local; ‘P’, polimorfismo encontrado (critério de 99%); ‘A’, número médio de alelos por loco em cada local; ‘H’, heterozigosidade média observada por loco em cada local (contagem direta); entre parênteses, o erro padrão. 24
- Tabela 5. Frequências alélicas encontradas em *Trypoxylon albitarse* em São Carlos (SP). Os ‘galpões’ encontram-se na Fazenda Canchim (EMBRAPA; Figura 7) e a população ‘ponte’ encontra-se a 40Km dali. 24
- Tabela 6. Parentesco médio entre fêmeas de *Trypoxylon albitarse* que emergiram de mesmo ninho. ‘N’ indica o número de fêmeas analisadas em cada ninho; ‘R(±EP)’ o grau de parentesco médio e seu erro padrão (Jackknife sobre ninhos); ‘IC95%’ intervalo de confiança de 95%. 25
- Tabela 7. Ninhos cujos resultados aloenzimáticos indicam associação de ninhos em *Trypoxylon albitarse*. Fenótipos haplóides são machos e diplóides fêmeas. Entre parênteses o sistema enzimático em que a associação foi detectada..... 26

- Tabela 8. Frequências alélicas (F, M, S: mobilidade relativa) para cada loco polimórfico encontrado em *Trypoxylon rogenhoferi* (adultos). Os indivíduos foram amostrados em ninhos-armadilha instalados em São Carlos (EMBRAPA) e Luiz Antônio (E. E. Jataí). 'N' = número de indivíduos amostrados; 'Hi' = heterozigiosidade intraloco observada, 'P' = grau de polimorfismo (critério de 99%); 'H' = heterozigiosidade média observada (contagem direta); 'A' = número médio de alelos por loco; 'DP' = desvio padrão. Apenas genótipos diplóides foram usados nos cálculos.....33
- Tabela 9. Frequências alélicas (F, S: mobilidade relativa) para cada loco polimórfico de *Trypoxylon rogenhoferi* (pupas). Os indivíduos foram amostrados em ninhos-armadilha presentes em São Carlos (Faz. Canchim, EMBRAPA). 'N' = número de indivíduos (pupas) amostrados; 'Hi' = heterozigiosidade intraloco observada, 'P' = grau de polimorfismo pelo critério de 99%; 'H' = heterozigiosidade média observada (contagem direta); 'A' = número médio de alelos por loco; 'DP' = desvio padrão. Apenas genótipos diplóides foram usados nos cálculos33
- Tabela 10. Parentesco médio entre as fêmeas de *Trypoxylon rogenhoferi* que emergiram de mesmo ninho. 'N' indica o número de fêmeas analisadas em cada ninho; 'R(\pm EP)' o grau de parentesco médio e seu erro padrão (Jackknife sobre ninhos); 'IC95%' intervalo de confiança de 95%. Em Luís Antônio foram analisados adultos e em São Carlos, pupas.36
- Tabela 11. Ninhos cujos resultados aloenzimáticos indicam associações de natureza diversa entre fêmeas de *Trypoxylon rogenhoferi*. Fenótipos haplóides são machos e diplóides fêmeas. A seqüência de oviposição é da esquerda para a direita.36
- Tabela 12. Aranhas capturadas por *Trypoxylon rogenhoferi* em dois ambientes distintos. A diversidade foi maior (teste t; $p < 0,0001$) na Fazenda Canchim (Shannon-Weaver, $H' = 0,91 \pm 0,57DP$) do que na Estação Ecológica Jataí ($H' = 0,15 \pm 0,24DP$).38
- Tabela 13. Comparação entre diversidade (H' , Shannon-Weaver), dominância (D, Berger-Parker) e similaridade (C_{M-H} , Morisita-Horn) entre diferentes locais de amostragem de aranhas capturadas por *Trypoxylon rogenhoferi*. EEJ: Estação Ecológica Jataí, Luís Antônio (SP); FC: Fazenda Canchim, São Carlos (SP); FSC: Fazenda Santa Carlota, Cajuru (SP); RP: Campus da USP/RP, Ribeirão Preto (SP); IM: Ilha de Marchantaria, Manaus (AM). FSC e RP, dados de CAMILLO & BRESOVIT (1999); IM, GARCIA & ADIS (1995). Todos os valores são estatisticamente distintos entre si, teste t, $p < 0,0001$ para todas as combinações.....48

SUMÁRIO

	Págs.
1. Introdução	1
1.1. Aspectos gerais da ordem Hymenoptera	1
1.2. Machos em ninhos de Sphecidae	4
1.3. O caso de <i>Trypoxylon</i>	5
1.4. Estudos genéticos em Hymenoptera, em particular <i>Trypoxylon</i>	8
2. Objetivo	10
3. Material & Métodos	11
3.1. Espécies estudadas.....	11
3.1.1. <i>Trypoxylon (Trypargilum) rogenhoferi</i>	11
3.1.2. <i>Trypoxylon (Trypargilum) albitarse</i>	12
3.2. Local de estudo e método de amostragem.....	12
3.3. Medidas tomadas	14
3.4. Razão sexual	15
3.5. Alocação sexual materna (<i>T. rogenhoferi</i>).....	15
3.6. Acesso a ninhos (<i>T. rogenhoferi</i>)	15
3.7. Taxa de provisionamento e fecundidade das fêmeas (<i>T. rogenhoferi</i>).....	16
3.8. Eletroforese	17
3.9. Medidas de variabilidade.....	17
3.10. Estrutura populacional	19
3.11. Parentesco intranidal	19
4. RESULTADOS	21
4.1. <i>Trypoxylon albitarse</i>	21
4.1.1. Ninhos, razão sexual e investimento materno	21
4.1.2. Análises genéticas	22
4.1.2.1. Medidas de variabilidade.....	22
4.1.2.2. Estrutura populacional.....	22
4.1.2.3. Parentesco intranidal.....	24
4.1.2.4. Associação de ninhos.....	25
4.2. <i>Trypoxylon rogenhoferi</i>	26
4.2.1. Volume da célula de cria e aranhas estocadas	26

4.2.2. Razão e alocação sexual	27
4.2.3. Volume da célula de cria e tamanho do adulto.....	27
4.2.4. Investimento materno.....	28
4.2.5. Taxas de provisionamento das fêmeas.....	31
4.2.6. Fecundidade.....	31
4.2.7. Residentes e patrulheiros	32
4.2.8. Análises genéticas	32
4.2.8.1. Medidas de variabilidade.....	32
4.2.8.2. Estrutura populacional.....	34
4.2.8.3. Parentesco intranidal	35
4.2.8.4. Associação entre fêmeas.....	35
4.3. Aranhas capturadas por <i>Trypoxylon rogenhoferi</i>	37
5. DISCUSSÃO	39
5.1. Razão sexual e investimento materno	39
5.2. Tamanho do corpo e valor adaptativo.....	41
5.3. Volume da célula de cria e sexo da prole.....	43
5.4. A guarda do ninho	44
5.5. Variabilidade genética e estrutura populacional	45
5.6. Aranhas capturadas por <i>Trypoxylon rogenhoferi</i>	46
6. CONCLUSÕES.....	50
7. REFERÊNCIAS.....	51

RESUMO

Vespas do gênero *Trypoxylon* (Sphecidae) utilizam barro na construção de seus ninhos e os aprovisionam de modo massal com aranhas paralisadas. Os machos do subgênero *Trypargilum* atuam como guardas durante a construção e aprovisionamento do ninho. Este comportamento é comum a alguns grupos de Sphecidae, mas não generalizado em Hymenoptera e, teoricamente, devido a assimetria de parentesco decorrente da haplodiploidia, ele tem sentido apenas se a guarda do ninho garantir ao macho a paternidade da prole feminina. Neste estudo, foi verificado como estão estruturadas as populações de *T. (Trypargylum) albitarse* e *T. (Trypargylum) rogenhoferi*, espécies comuns em todo Brasil. Para isso, foram coletados ninhos em São Carlos (SP) em Luís Antônio (SP), sendo pupas e adultos analisados usando-se eletroforese em sentido horizontal em gel de amido. As populações das duas espécies mostraram-se estruturadas, provavelmente, em conseqüência do comportamento filopátrico destas vespas. No caso de *T. rogenhoferi*, além da filopatria, a fecundidade diferenciada entre as fêmeas pode ter papel importante na estruturação da população. Fêmeas grandes produzem maior número de prole e, em média, as filhas destas fêmeas também são grandes. Assim, o genótipo de fêmeas grandes pode predominar nas áreas de nidificação. Neste sentido, *T. rogenhoferi* adequa-se aos preceitos dos modelos de alocação sexual ótima, outro ponto analisado neste estudo. O aprovisionamento materno determinou o tamanho de cada progênie e as fêmeas destinaram as células de cria melhor aprovisionadas às suas filhas, as quais se beneficiaram por serem maiores. Esta estratégia produziu diferenças de tamanho entre os sexos, sendo as fêmeas maiores do que os machos. Há evidências que a disponibilidade local de presas pode ser importante na decisão da fêmea em produzir prole de um ou outro sexo e influenciar o tamanho corporal de ambos os sexos, mas estudos futuros são necessários para verificar se o aumento local de recursos poderia desempenhar algum papel nas populações de *T. rogenhoferi*. A paternidade do guarda também foi investigada e foi verificado nas duas espécies que em muitos casos ele é o pai da prole feminina, mas os resultados apresentaram-se contraditórios para as duas espécies. Devido aos grandes erros padrões associados as estimativas de parentesco (determinadas usando-se sistemas enzimáticos polimórficos como marcadores), muitos dos valores encontrados não diferiram de zero ou 0,75 (irmãs completadas). Não foi possível determinar se estes desvios relacionam-se com (i) acasalamentos múltiplos, (ii) troca de ninhos entre fêmeas e/ou (iii) posturas de fêmeas diferentes em um mesmo ninho. De acordo com observações feitas nas áreas de nidificação, (ii) e (iii) podem ocorrer com frequência muito variável, dependendo da densidade populacional e disponibilidade de locais de nidificação. A ocorrência de (i) pode ser possível caso as repetidas cópulas entre o guarda e a fêmea não sejam efetivas para assegurar a ele a paternidade. Em áreas com populações densas, cópulas extrapar são comuns. Talvez a adoção de outra abordagem na determinação da paternidade nestas vespas seja a melhor solução para esta questão.

ABSTRACT

Wasps of the genus *Trypoxylon* (Sphecidae) building their nests with mud and mass-provisioned them with paralyzed spiders. The males of the subgenus *Trypargilum* may act as guards during the period of nest construction and provisioning. This behavior is common to other Sphecidae, but unusual in Hymenoptera. Theoretically, such behavior makes sense, due to haplodiploid and its relatedness asymmetry, only if male guards be the fathers of the female brood. In this study was investigated the population structure of *T. (Trypargilum) albitarse* and *T. (Trypargilum) rogenhoferi*, both common species in Brazil. Nests were sampled in São Carlos and Luís Antônio, State of São Paulo cities. Pupae and adults were analyzed using horizontal starch gel electrophoresis. The populations of the two species showed structured, probably as consequence of philopatric behavior of the wasps. In the case of *T. rogenhoferi*, behind philopatry, differentiate fecundity among females may be important to determine the observed population structure. Larger females produce more offspring than small ones and, on average, the daughters of these larger females are larger too. Thus, the larger females' genotype may be the predominant in the nesting area. In this manner, *T. rogenhoferi* fits the predictions of the models on optimal sex allocation, another line of investigation in this study. Maternal provisions determined the size of each offspring and females allocated well-stocked brood cells to daughter, the sex that benefits most being large. This strategy yielded differences in size between the sexes, being the females larger than males. There are evidences local prey availability may influence the female decision of lay a male or a female egg and also influence the body size of both sexes, but furthers studies are necessary to test whether local resources enhancement might play some role in *T. rogenhoferi* populations. The guard paternity also was investigated and was verified to both species that in many cases the guard was the father of the female offspring, but the results are contradictory. The relatedness estimates (determined using variable enzyme systems as markers) have large standard errors; so many of the values do not differ from zero or 0.75 (full sisters). It was not possible to determine whether such deviations are due (i) multiple mating by females, (ii) nest switching and/or (iii) more than one female laying eggs in a nest. It was observed that (ii) and (iii) can occur in variable frequencies, being dependents of population density and availability of places to nesting. The occurrence of (i) may be possible whether the repeated copulations solicited by the guard from the female were not effective to assure to him the paternity. In areas with dense populations, extrapair copulations are frequent. Maybe, the adoption of another approach to determine the paternity in these wasps be the better solution to this question.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos gerais da ordem Hymenoptera

Entre as ordens de insetos, Hymenoptera é considerada uma das mais importantes para o homem. Seja pelos benefícios da polinização, do controle biológico de pragas e obtenção de produtos apícolas, ou destruição causada por alguns dos seus representantes em áreas com essências florestais. Os himenópteros apresentam relações bastante complexas com outros organismos e nenhuma outra ordem de insetos apresenta complexidade biológica maior do que Hymenoptera (GAULD & BOLTON 1996). Algumas estimativas conservadoras consideram 300.000 espécies compondo a ordem (GOULET & HUBER 1993).

Uma das características primárias de Hymenoptera é o sistema haplodiplóide de determinação do sexo, em que os machos se desenvolvem de ovos não-fertilizados e fêmeas de ovos fertilizados. O processo de produção de machos a partir de ovos não-fertilizados recebe o nome de arrenotoquia. Este tipo de partenogênese favorece características importantes na história evolutiva dos himenópteros: (1) a arrenotoquia permite rápida e ampla eliminação de genes recessivos deletérios da população, através da seleção natural operando sobre machos hemizigotos (HAVRON et al. 1987) e (2) permite que a fêmea possa escolher o sexo de sua prole, pelo controle da liberação do esperma armazenado em sua spermateca (FLANDERS 1965, GERBER & KLOSTERMEYER 1970). Este controle é efetivado no momento da oviposição, quando a fêmea pode, ou não, liberar espermatozóides armazenados em sua spermateca e, na maioria das vezes, é influenciado por estímulos externos, como disponibilidade de alimento e competição por acasalamento, o que contribui para o aumento do valor adaptativo (fitness) da fêmea (CHARNOV 1982).

Devido as assimetrias de parentesco geradas entre os membros da família (isto é, irmãs completas compartilham entre si 75% de seus genes, mãe-filhas ou filhos

50%, pai-filhas 100% e irmãs-irmãos 25%)), podem ocorrer conflitos de interesse entre machos e fêmeas no momento da determinação do sexo da prole (TRIVERS & HARE 1976).

De acordo com a teoria de alocação sexual (FISHER 1930), na maioria das populações panmíticas são esperados investimentos igualitários na produção dos dois sexos e razão sexual próxima de 1:1. Porém, nos himenópteros aculeados (abelhas, formigas e algumas vespas) são observados desvios desta proporção, frequentemente atribuídos a fatores ecológicos, fisiológicos e sociais. Entender como estes desvios surgem e como evoluem nas populações é um dos interesses de estudos sobre a evolução da socialidade em Hymenoptera (TRIVERS & HARE 1976, ALEXANDER & SHERMAN 1977, FROHLICH & TEPEDINO 1986, BROCKMANN & GRAFEN 1992, HELMS 1994, DESLIPPE & SAVOLAINEN 1995, CROZIER & PAMILO 1996, YANEGA 1996, CHAPUISAT & KELLER 1999, STROHM & LINSENMAIR 1997a, 1997b, 1999, OKU & NISHIDA 1999, 2001).

Também podemos encontrar em Hymenoptera casos de telitoquia (fêmeas diplóides não-fertilizadas produzindo outras fêmeas também diplóides; nestes casos machos são raros) e deuterotoquia (em que há produção de machos haplóides ou fêmeas diplóides, sendo ambos produtos de óvulos não-fecundados, sob influencia de agentes ambientais, como microrganismos ou temperatura) (GAULD & BOLTON 1996).

Também existem casos de machos diplóides (WHITING 1939, revisão em CROZIER & PAMILO 1996; págs. 15 e 16), os quais são pouco viáveis, possuindo baixo ou nenhum valor adaptativo. Em grupos onde eles são produzidos em grande número, a extinção da população é muito provável (ROSS & FLETCHER 1985). Dessa forma, vários mecanismos de controle da produção de machos diplóides evoluíram independentemente em vários grupos de Hymenoptera (WOYKE 1986, KERR 1987, COOK 1993).

Entre os himenópteros são encontrados diversos tipos de sistemas sociais. O hábito solitário de criação da prole é predominante, mas há grupos com diversos níveis de interações sociais, sendo a eussocialidade (sensu CRESPI & YANEGA 1995) o nível mais diferenciado. As larvas de alguns grupos (Symphyta e Encyrtidae) apresentam adaptações para a vida em grupo (DIAS 1975, 1976, CRUZ 1981, COSTA & PIERCE 1996), mas é entre os adultos que diferentes sistemas sociais são encontrados com maior facilidade.

A ocorrência de cuidado maternal é generalizada entre os himenópteros (EVANS & WEST-EBERHARD 1970, GAULD & BOLTON 1996, MELO 2000), sendo mais pronunciado em grupos que constroem ninhos complexos e apresentam sofisticados sistemas de defesa (Apocrita: vários Aculeata, como formigas, vespas e abelhas sociais) (HUNT 1999).

O cuidado maternal pode ter significado imediato, como a escolha do local ideal para a postura do ovo que, em alguns grupos, como muitos parasitóides, fica exposto

às variações do ambiente, ou prolongado, com a construção de um ninho, com maior ou menor grau de sofisticação, que contribui para diminuir a ação do ambiente sobre a prole (ovos, larvas e adultos) e que pode ser herdado (STARR 1991, MELO 2000).

Outro aspecto do cuidado maternal, este restrito a Apocrita, é o fornecimento de alimento às larvas pelos adultos, seja de maneira progressiva (aos poucos) ou massal (todos os recursos necessários ao desenvolvimento de uma larva são oferecidos a ela de uma única vez). Abelhas e vespas que aprovisionam suas células de cria de forma massal são particularmente interessantes para testar hipóteses sobre alocação sexual (BOURKE 1997, MOLUMBY 1997, STROHM & LINSENMAIR 1999, 2000). Nestes casos, assim como acontece com algumas vespas parasitóides (GAULD & HANSON 1995), o sucesso reprodutivo da prole depende muito de escolhas feitas no momento da oviposição e também do fenótipo da mãe (principalmente tamanho e vigor). Esta influência direta da mãe sobre sua prole é um tipo de efeito materno (KIRKPATRICK & LANDE 1989, MOUSSEAU & FOX 1998) e, em vários casos, é responsável por grande parte da variação encontrada nas populações naturais, sobre a qual a seleção natural pode agir (HONEK 1993, MOLUMBY 1997, STROHM & LINSENMAIR 1997a).

Os modelos teóricos propostos independentemente por GREEN (1982) e BROCKMANN & GRAFEN (1992) para explicar a alocação sexual ótima quando há variação aleatória de recursos assumem: (1) que a provisão oferecida a cada larva apresenta distribuição aleatória contínua (isto é, em um rol de presas, todas elas, independentemente de seu tamanho, cor, idade, etc., têm a mesma probabilidade de serem capturadas; em outras palavras, a fêmea que caça utiliza todas as presas disponíveis e não uma classe delas); (2) o valor adaptativo de cada adulto depende da provisão dada a cada larva; (3) o valor adaptativo de machos e fêmeas é diferentemente afetado pela quantidade de provisão que eles receberam e, (4) a fêmea pode determinar o sexo de cada prole de acordo com a provisão disponível. Caso a provisão larval influencie o tamanho do corpo, estes modelos predizem que a fêmea poderá destinar as células mais bem estocadas (ou hospedeiros maiores) ao sexo que mais se beneficiar do maior tamanho. Assim, dimorfismo sexual para tamanho do corpo pode ser resultado de uma estratégia adaptativa de aprovisionamento adotado pela mães.

Em Hymenoptera, na maioria dos casos, o sucesso reprodutivo das fêmeas está associado ao maior tamanho de corpo. Fêmeas maiores têm capacidade de armazenar mais gordura, apresentam maior vigor físico, o que confere a elas melhores condições para a captura e transporte de presas (ALCOCK 1979, O'NEILL 1985, MOLUMBY 1997, GHAZOUL 2001). Para os machos, o maior tamanho não traz vantagens reprodutivas, mesmo em espécies cujos machos mantêm territórios (ALCOCK 1994). Uma exceção seria *Pogonomyrmex occidentalis* (Formicidae) em que machos maiores produzem e trans-

ferem maiores quantidades de esperma durante a cópula e garantem, assim, maior representatividade de seus genes em uma nova colônia (WIERNASZ et al. 2001). Dessa forma, para a maximização de seu valor adaptativo, a fêmea pode adotar a estratégia de produzir fêmeas de tamanho maior ou machos de tamanho maior ou menor, decisão que pode depender das condições ambientais existentes no momento da postura (CHARNOV 1982, O'NEIL 1985, MOLUMBY 1997, WALIN & SEPPA 2001).

Contrastando com o cuidado maternal, o cuidado paternal é raro em Hymenoptera. De forma geral, os machos nestes insetos têm apenas função reprodutiva. Entre os grupos com sistemas eussociais, os machos são produzidos principalmente nos períodos de reprodução da colônia. Fora destes períodos, eles são pouco tolerados pelas fêmeas, morrendo pelos frequentes ataques das operárias ou de fome, quando expulsos da colônia por elas (WILSON 1971, MICHENER 1974). São poucos os relatos de machos de Hymenoptera auxiliando de alguma maneira as fêmeas (veja EVANS & WEST-EBERHARD 1970, KERR 1997, HANSON & MENKE 1995). Entretanto, o comportamento de ajuda do macho parece ocorrer com maior frequência em Sphecidae, um grupo de Apoidea, onde estão agrupados, além de vespas Sphecidae e Heterogynaidae, todas as abelhas (Apidae lato sensu) (ALEXANDER 1992, BROCKMANN 1996, MELO 1999).

1.2. Machos em ninhos de Sphecidae

A presença de machos em ninhos em construção e/ou em provisionamento foi registrada em várias espécies de Sphecidae (MATTHEWS 1991). O comportamento de guarda de ninhos ativos por machos está restrito a alguns representantes de *Cerceris*, *Dynatus*, *Lindenius*, *Oxybelus*, *Pison*, *Philanthus*, *Tachytes*, *Tachysphex*, *Trachypus*, *Trigonopsis* e *Trypoxylon* (BOHART & MENKE 1976, KIMSEY 1978, HOOK & MATTHEWS 1980, BANKS 1995, BROCKMANN & GRAFEN 1989, ANTROPOV 1990, HANSON & MENKE 1995) (Figura 1). Tal comportamento é caracterizado pela defesa do ninho pelo macho contra predadores, parasitas e coespecíficos (COVILLE & COVILLE 1980) e, provavelmente, surgiu independentemente nestes gêneros, sendo derivado do hábito territorial do macho (ALCOCK 1975).

Em espécies gregárias, com as fêmeas se acasalando apenas uma vez, logo após a emergência, os machos monopolizam os locais de nascimento de fêmeas virgens. Nestes grupos, os machos emergem antes das fêmeas e estabelecem seus territórios, os quais são defendidos contra invasores. Em espécies com fêmeas receptivas durante toda a vida (como as do subgênero *Trypargilum*), os machos estabelecem seus territórios onde as fêmeas estão nidificando ou coletando materiais para os ninhos (ALCOCK et al. 1978).

A presença do guarda, aparentemente, oferece alguma proteção à prole que está sendo produzida, pois o macho afugenta inimigos das proximidades do ninho (COVILLE

& COVILLE 1980). Além disso, fêmeas de ninhos com guarda podem permanecer menos tempo no ninho, aumentando sua eficiência reprodutiva (BROCKMANN 1988).

Entretanto, devido à haplodiploidia a presença de machos atuando como guardas em Sphecidae só teria sentido (sob a ótica da seleção por parentesco; HAMILTON 1964a, b, 1972) se o macho de alguma forma maximizasse a produção de prole feminina (BROCKMANN 1988) ou contribuísse para a produção de fêmeas com maior vigor e conseqüente maior capacidade reprodutiva (MOLUMBY 1997, STROHM & LINSENMAIR 1997b).

APOIDEA

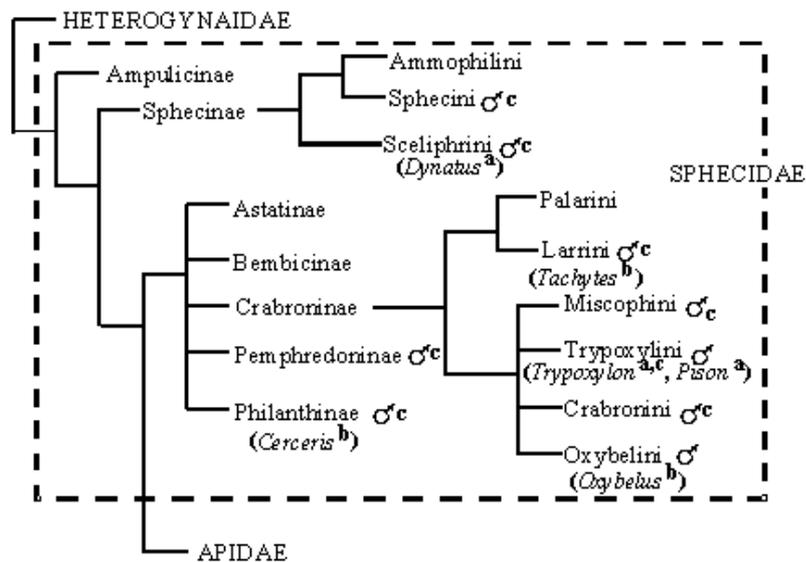


Figura 1. Possíveis relações filogenéticas em Apoidea enfatizando os grupos de Sphecidae. A hipótese filogenética está de acordo com ALEXANDER (1992) com algumas das modificações sugeridas por MELO (1999). A presença de machos em ninhos é indicada por '♂' (dados de KYMSEY 1978, HOOK & MATTHEWS 1980, ANTROPOV 1990, MATTHEWS 1991, BANKS 1995 e BROCKMANN 1996). Entre parênteses estão nomes de gêneros onde o macho permanece no ninho enquanto a fêmea está fora. 'a' indica grupos onde o macho permanece no ninho e copula com a fêmea a cada retorno dela ao ninho. 'b' grupos onde os machos mantêm território próximo ao ninho ativo, ou na própria entrada dele, e sempre copulam com a fêmea quando esta retorna ao ninho. 'c' grupos onde ocorrem associações entre fêmeas e os machos são tolerados nos ninhos (como ocorre nos grupos sociais de Apidae). Grupos com biologia pouco conhecida foram excluídos.

1.3. O caso de *Trypoxylon*

O gênero *Trypoxylon* apresenta ampla distribuição geográfica e nele são agrupadas 660 espécies (HANSON & MENKE 1995) divididas entre os subgêneros *Trypoxylon* e *Trypargilum*, sendo este restrito ao Novo Mundo, onde ocorrem 96 espécies, 86 Neotropicais. Dessas, 64 ocorrem apenas na América do Sul (RICHARDS 1934, BOHART & MENKE 1976, AMARANTE 1991a, b, 1995). Em *T. (Trypoxylon)* há registro de machos ocorrendo em ninhos de *T. fabricator* (SAKAGAMI et al. 1990) e *T. asunsicola*

(PERUQUETTI & DEL LAMA 2002). Estes machos, até o momento, não podem ser considerados guardas, pois seu comportamento é bastante distinto daqueles dos machos do subgênero *Trypargilum*. Estes permanecem no ninho (Figura 2) em associação com a fêmea desde a fundação até o término do ninho (CROSS et al. 1975, COVILLE & COVILLE 1980); em *T. (Trypargilum) superbum* o guarda permanece junto ao ninho por alguns dias após seu término (COVILLE & GRISWOLD 1984).



Figura 2. Em *Trypoxylon (Trypargilum)* os machos atuam como guardas, como este (seta) de *T. rogenhoferi*. O macho deixa o ninho somente quando molestado ou para investir contra machos coespecíficos, parasitas e predadores.

Em *Trypargilum*, ocorrem no interior do ninho cópulas entre o macho que está guardando o ninho e a fêmea (AMARANTE 1991a, BROCKMANN 1992, GARCIA & ADIS 1995) e a guarda do ninho pelo macho confere maior proteção à prole e pode resultar em maior garantia de que os genes do guarda sejam passados à próxima geração (CROSS et al. 1975, BROCKMANN 1992, COVILLE & COVILLE 1980, AMARANTE 1991a). MOLUMBY (1997) sugere que o dimorfismo sexual de tamanho existente neste grupo poderia facilitar a guarda do ninho pelo macho, já que em muitas espécies desse subgênero as fêmeas pesam mais do que os machos (COVILLE & COVILLE 1980, BROCKMANN 1992, GARCIA & ADIS 1995). Dessa forma, o macho ‘ajudaria’ sua parceira a aprovisionar melhor as células de cria para que prole feminina fosse produzida (BROCKMANN & GRAFEN 1989). Outra hipótese sugere que o macho de *Trypargilum* poderia usar o ninho simplesmente como local de garantia de cópula (ALCOCK et al. 1978), mas isto não explica a guarda do ninho durante todo o período de aprovisionamento.

As cópulas repetidas entre o macho que guarda o ninho e sua fêmea poderiam assegurar-lhe a paternidade da prole feminina considerando a vantagem reprodutiva do último macho (ALCOCK 1994), o que relaciona-se ao fenômeno conhecido

como precedência espermática, comum em muitas espécies de insetos (SMITH 1979, ALCOCK 1991, 1994, ALLEN et al. 1994, LEWIS & JUTKIEWICZ 1998). A garantia de paternidade seria uma explicação adaptativa, do ponto de vista do macho, para que ele permanecesse no ninho (THORNHILL & ALCOCK 1984).

Por outro lado, o custo da cópula (gasto energético, possibilidade de aquisição de doenças e aumento da possibilidade de ser predado) deve ser igual para machos e fêmeas (HUNTER et al. 1993). Assim, as possíveis vantagens adaptativas relacionadas as cópulas repetidas, do ponto de vista da fêmea, estariam relacionadas a alguns benefícios materiais (THORNHILL & ALCOCK 1984). Estes benefícios seriam (1) proteção contra outros machos e/ou fornecimento de recursos e/ou (2) ajuda na construção do ninho. Oferecimento de recursos ocorre em alguns besouros Silphidae, cujos machos localizam pequenas carcaças de vertebrados (um recurso de difícil obtenção) e delas se apossam para reprodução, depois fêmeas são atraídas e uma associação monogâmica é estabelecida (EGGERT & MÜLLER 1996). As cópulas repetidas entre os pares em *Trypargilum* poderiam ser um tipo de incentivo dado pela fêmea ao macho para que ele permanecesse no ninho, possibilitando que ela aumente sua taxa reprodutiva (BROCKMANN 1988, AMARANTE 1991a, MOLUMBY 1997).

Outro aspecto que deve ser levado em conta é que a razão sexual em himenópteros que nidificam em cavidades preexistentes é afetada por fatores como escassez de recursos ou diâmetros reduzidos para nidificação. Há maior produção de machos quando os recursos são escassos ou quando os diâmetros são reduzidos (KROMBEIN 1967, CAMILLO et al. 1993, GAULD & BOLTON 1996, STROHM & LINSENMAIR 1997a). Estes fatores poderiam desencorajar o macho a permanecer guardando o ninho até seu término já que apenas as fêmeas são aparentadas a ele (HAMILTON 1972). Além disso, na maioria das espécies de *Trypargilum* que nidificam em cavidades preexistentes há um padrão na ocorrência dos sexos dos imaturos no ninho. Os ovos que darão origem aos machos são postos pela fêmea, preferencialmente, nas células do fundo do ninho, as primeiras a serem construídas (KROMBEIN 1967, CAMILLO et al. 1993, 1995). A situação pode ser mais complicada, já que cópulas extrapar podem ocorrer entre a fêmea e machos que ficam patrulhando as áreas de nidificação (Figura 3).



Figura 3. Fêmea (♀) de *Trypoxylon rogenhoferi* chegando ao ninho. Muitas vezes a fêmea para na entrada do ninho para depois entrar nele (A). Neste momento machos (♂) que estão procurando ninhos vagos aproximam-se e muitas vezes copulam com a fêmea (B). Em (A e B) o guarda está no interior do ninho.

1.4. Estudos genéticos em Hymenoptera, em particular *Trypoxylon*

Hymenoptera, por sua diversidade biológica e questões relacionadas ao surgimento e manutenção de sistemas sociais, é um grupo relativamente bem estudado geneticamente. Apesar disso, muitas das questões sobre a influência das características genéticas desses insetos e sobre a forma como eles se relacionam entre si e com o meio em que vivem apresentam respostas não-conclusivas (BERKELHAMER 1983, REEVE et al. 1985, ITO 1993, CROZIER & PAMILO 1996, CRESPI & CHOE 1997). Considerando-se a variabilidade genética (medida como heterozigosidade média observada), em geral, Hymenoptera apresenta valores baixos quando comparados com outros insetos (3,6% vs. 12%) (LESTER & SELANDER 1979, GRAUR 1985).

Nos estudos genéticos envolvendo Hymenoptera são tratados problemas como evolução do comportamento social (RICHARDS 1994), taxonomia (PACKER et al. 1992), graus de parentesco e sistemas de acasalamento dentro de grupos sociais (QUELLER et al. 1993, PETERS et al. 1999) ou dentro de uma área (PFENNIG & REEVE 1993), determinação de níveis de endogamia (CHAPMAN & STEWART 1996), níveis de dispersão de formas reprodutivas e estrutura populacional (CHAPUISAT et al. 1997) e formulação de hipóteses sobre evolução cariotípica (IMAI et al. 1988).

Poucos foram os estudos genéticos que utilizaram *Trypoxylon*. Em um estudo sobre a variabilidade genética em Hymenoptera, METCALF et al. (1975) utilizaram, entre outros himenópteros, *T. politum*. Foram amostrados 19 locos enzimáticos, 32% deles polimórficos e a heterozigosidade média observada foi 5,9%. Outros estudos genéticos envolvendo *Trypoxylon* foram feitos por AMARANTE (1991a) que determinou o número

cromossômico de *T. albitarse*, por GOMES et al. (1995) que realizaram análise citogenética de três espécies de *T. (Trypoxylon)*, por GOMES et al. (1997) que realizaram análise citogenética em cinco espécies de *T. (Trypargilum)* e propuseram uma hipótese sobre a evolução cariotípica neste subgênero. SCHER (1996) estudou citogeneticamente uma população de *T. nitidum* e verificou que esta espécie, aparentemente, apresenta grande variação cariotípica. ARAÚJO et al. (2000, 2002) realizaram um estudo sobre os cromossomos supranumerários presentes em *T. albitarse* e propuseram uma hipótese sobre como estes cromossomos teriam surgido nesta espécie e a ocorrência de carga genética em uma população em consequência da presença de variantes cromossômicas ausentes nos machos. São desconhecidos estudos sobre a genética populacional de qualquer espécie de *Trypoxylon*, ou estudos que tratem da questão da paternidade da prole feminina nos ninhos de *Trypargilum*.

Neste estudo, foram estimados os aspectos genéticos de duas populações de *T. rogenhoferi* e uma de *T. albitarse*. Também foi examinada a alocação diferenciada de recursos e seus efeitos no valor adaptativo de cada sexo em *T. rogenhoferi* e verificados alguns aspectos da biologia desta espécie.

2. OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo, a partir dos dados biológicos e genéticos coletados em espécies solitárias de *Trypoxylon (Trypargilum)*, responder às seguintes questões:

- 1) Como estão estruturadas geneticamente as espécies solitárias de *Trypoxylon (Trypargilum)*?
- 2) A permanência do macho de *T. (Trypargilum)* no ninho durante sua construção assegura a ele a paternidade?
- 3) As estratégias de alocação sexual adotadas pelas espécies que nidificam em cavidades preexistentes atendem aos preceitos dos modelos propostos?

3. MATERIAL & MÉTODOS

3.1 Espécies estudadas

3.1.1. *Trypoxylon (Trypargilum) rogenhoferi*

No Brasil, *T. rogenhoferi* é espécie bastante comum. As fêmeas nidificam em cavidades preexistentes como ninhos abandonados de outras vespas ou buracos feitos em madeira por outros insetos. As fêmeas constroem seus ninhos sozinhas. Cavidades longas são subdivididas pela fêmea com paredes de barro, formando assim diferentes células de cria, de uma até 12, dependendo do comprimento da cavidade utilizada. Cada célula é provisionada com número variável (três a 20) de aranhas paralizadas e um único ovo é colocado na última aranha depositada em cada célula de cria (Figura 4). A fundação de ninhos ocorre ao longo de todo ano, mas o período quente e úmido é o de maior atividade.

O macho de *T. rogenhoferi* pode atuar como guarda durante o período de provisionamento do ninho, como acontece com outros representantes do subgênero *Trypargilum*. Normalmente, ele se posiciona no interior da cavidade de nidificação, junto às aranhas armazenadas. Periodicamente, ele inspeciona a entrada do ninho e repele parasitas e/ou coespecíficos de ambos os sexos que tentam entrar no ninho. O guarda repetidamente copula com a fêmea quando ela retorna ao ninho, especialmente antes da oviposição. Cópulas extrapar também ocorrem, frequentemente, na entrada do ninho, onde a fêmea pousa ao retornar com barro ou aranha (Figura 3). Machos que não estão guardando ninhos patrulham as áreas de nidificação à procura de ninhos que ainda não tenham guarda. Quando ninhos vazios são encontrados, os machos permanecem neles até que uma fêmea entre na cavidade, quando ocorre cópula e o ninho começa a ser construído.

Dados sobre a biologia de *T. rogenhoferi* podem ser encontrados em CAMILLO et al. (1994), GARCIA & ADIS (1995) e CAMILLO & BRESCOVIT (1999a).

Tabela 7. Ninhos cujos resultados aloenzimáticos indicam associação de ninhos em *Trypoxylon albitarse*. Fenótipos haplóides são machos e diplóides fêmeas. Entre parênteses o sistema enzimático em que a associação foi detectada.

Ninho	Associação de ninhos de duas ou mais fêmeas ^A	
	Três alelos presentes em machos e em fêmeas homo/heterozigotas	
g3n29	F, M, S, FF FS, FS, SS, SS	(<i>Est-2</i>)
g3n29	F, M, S, FM, MM, MM MS, MS	(<i>Pgm-3</i>)

^A Fenótipos ordenados de acordo com o sexo



Figura 12. Ninhos de *Trypoxylon albitarse*. Em (A) é possível observar a associação de duas fêmeas nidificantes: 1 (um ninho com um tubo) e 2 (um ninho com dois tubos). A coloração diferente do barro utilizado na construção de cada ninho é bom indicativo da associação (AMARANTE 1991a). Em (B) vê-se um ninho construído por uma única fêmea. Neste caso, a coloração diferente do barro ao longo do tubo (setas) indica que a fonte de substrato não era homogênea.

4.2. *Trypoxylon rogenhoferi*

Foram amostrados 306 ninhos desta espécie, correspondendo a 908 células, 57,6% amostradas em São Carlos e o restante em Luís Antônio. Nesta população, as taxas de parasitismo foram elevadas (52% dos ninhos fundados; em São Carlos, 4,6%). Em Luís Antônio, as mortes causadas por falha no desenvolvimento foram 26,4%, em São Carlos, 22,3%.

4.2.1. Volume da célula de cria e aranhas estocadas

Os caracteres de tamanho de corpo, peso das aranhas estocadas e volume das células de cria seguiram distribuição normal para ambos os sexos de *T. rogenhoferi* (Kornolgorov-Smirnov; $p > 0,20$ para todos os testes).

O volume da célula de cria foi significativamente correlacionado com o peso úmido ($r = 0,43$; $p < 0,0001$; $gl = 316$) e número ($r = 0,21$; $p < 0,001$; $gl = 272$) das aranhas provisionadas. Também houve correlação entre a massa e o número de aranhas estocadas ($r = 0,26$; $p < 0,0001$; $gl = 272$).

Foram instalados, aproximadamente, 500 ninhos em cada local (Figura 6). Os ninhos foram construídos com gomos de bambu com ± 20 cm de comprimento e diâmetro variável (sete a 19mm), abertos em uma extremidade e fechados na outra pelo próprio nó. Ambas as localidades de amostragem apresentam, em suas proximidades, áreas com vegetação típica do Cerrado, Floresta semidecídua, corpos d'água e áreas com pastagem. Estes ambientes oferecem condições ideais para a ocorrência e nidificação de *Trypoxylon*. A população de *T. rogenhoferi* de Luís Antônio nidifica no local onde foram instalados os ninhos-armadilha há, pelo menos, 25 anos (H. Gomes, com. pessoal). A população de São Carlos concentrou-se no local de amostragem apenas depois da instalação dos ninhos-armadilha. Ninhos de *T. albitarse* foram coletados em galpões de ordenha localizados na Fazenda Canchim (Figura 7).

Os casulos viáveis de ambas as espécies foram transferidos para tubos de vidro, juntamente com o número do ninho e a posição ocupada pelo casulo no ninho.



Figura 5. Ninhos de *Trypoxylon albitarse*. Cada tubo é subdividido formando células de cria em número variável.

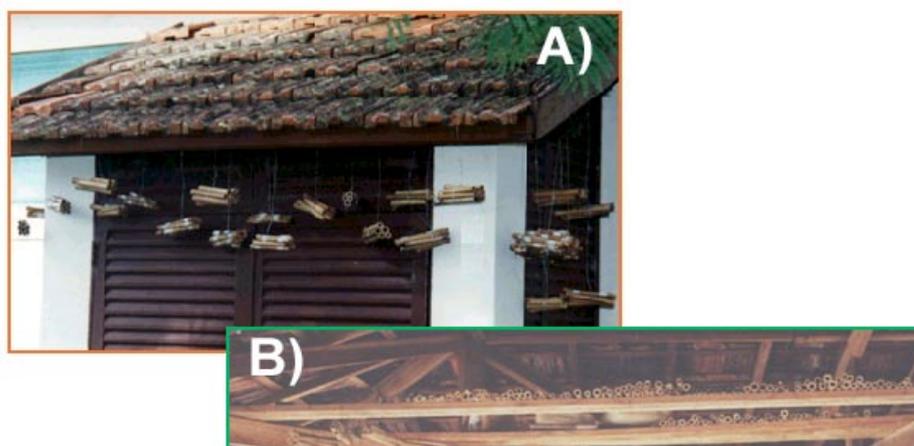


Figura 6. Locais de amostragem dos ninhos de *Trypoxylon rogenhoferi*. (A) Fazenda Canchim (São Carlos, SP) e (B) Estação Ecológica Jatáí (Luís Antônio, SP).

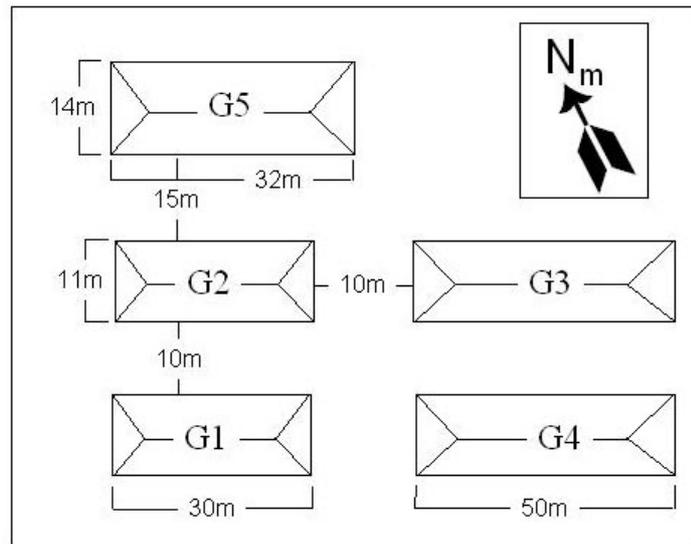


Figura 7. Croqui dos locais de coleta dos ninhos de *Trypoxyton albitarse* na Fazenda Canchim (EMBRAPA, São Carlos). G1 a G5 mostram os galpões de ordenha da fazenda, onde havia vários ninhos presos às suas paredes. Ao todo foram escavados 187 ninhos, representando 2220 células.

Os casulos foram deixados em local escuro e à temperatura ambiente até a emergência dos adultos. Cada adulto emergido foi sexado, pesado e medido no comprimento de sua asa anterior, como descrito abaixo (item 3.3).

Alguns indivíduos foram separados, montados em alfinete entomológico, etiquetados, mantidos em local apropriado e, posteriormente, enviados a especialista para determinação da espécie. Parte destes indivíduos foram usados posteriormente em comparações para a determinação da espécie de novos indivíduos coletados.

Espécimes testemunhas de *T. rogenhoferi* e *T. albitarse* estão depositados no Museu de Zoologia da USP (MZUSP) e no Museu do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da UFSCar (DCBU).

3.3. Medidas tomadas

Os ninhos coletados de *T. rogenhoferi* e *T. albitarse* tiveram seus diâmetros e os comprimentos de cada célula de cria medidos. O volume das células foi calculado usando-se a fórmula para cálculo do volume do cilindro (para *T. albitarse* o valor obtido foi dividido por dois) e esta medida foi escolhida como índice de investimento maternal porque é possível obtê-la de maneira não-destrutiva, principalmente após a larva ter terminado seu desenvolvimento. Além disso, o volume da célula de cria de *T. rogenhoferi* e de *T. albitarse*, correlaciona-se com a massa de aranhas nela provisionada (AMARANTE 1991a, GARCIA & ADIS 1995, CAMILLO & BRESCOVIT 1999a).

Como índice de tamanho de corpo foi usado o comprimento da asa anterior (CAA), tomada ao longo da margem da asa, da base da tégula até sua extremidade.

Em *Trypoxylon*, esta medida é boa indicadora do tamanho de machos e fêmeas, sendo indicativa da quantidade de alimento recebido pelo imaturo (COVILLE & GRISWOLD 1984).

3.4. Razão sexual

A razão sexual foi determinada com base nos indivíduos que emergiram no laboratório (razão sexual secundária) em cada uma das populações amostradas. Em *T. rogenhoferi*, para verificar se o diâmetro dos ninhos-armadilha exerceu alguma influência sobre a razão sexual, foi tomada uma amostra, em cada população, de ninhos em que todos os indivíduos completaram seu desenvolvimento. A razão sexual encontrada nestes ninhos, calculada como porcentagem de machos, foi arcoseno transformada e os valores obtidos comparados com o diâmetro dos ninhos através de regressão linear.

3.5 Alocação sexual materna (*T. rogenhoferi*)

Alguns ninhos foram amostrados logo após as fêmeas terem terminado sua construção e tiveram determinados, para cada célula de cria, o volume, o número e a massa das aranhas. A relação entre o volume da célula de cria e a razão sexual foi investigada classificando-se os volumes amostrados em seis categorias (Figura 15) contendo, aproximadamente, o mesmo número de observações (indivíduos produzidos). O volume médio das células de cria foi comparado com a proporção de machos produzidos utilizando-se regressão logística (TREXLER & TRAVIS 1993, MOLUMBY 1997). Foram incluídas 273 células nestas análises.

3.6. Acesso a ninhos (*T. rogenhoferi*)

Nas áreas de nidificação de *T. rogenhoferi*, a população pode ser dividida em indivíduos residentes (aqueles que estão estabelecidos em ninhos) e patrulheiros (aqueles que estão à procura de locais para nidificação). Para verificar o possível papel do tamanho do corpo de machos e fêmeas no acesso a ninhos, no período de 14 a 19 de janeiro de 2001, vespas presentes na área de nidificação de Luís Antônio foram capturadas, marcadas (Figura 8), medidas e, após anotações, liberadas. Neste período, a área de nidificação foi observada e anotados quais indivíduos (marcados ou não) estavam estabelecidos em ninhos. O teste t foi utilizado para verificar possíveis diferenças no tamanho de corpo entre as categorias residente e patrulheira. O teste de Levene foi empregado para verificar diferenças entre a variância do tamanho do corpo entre as duas categorias.

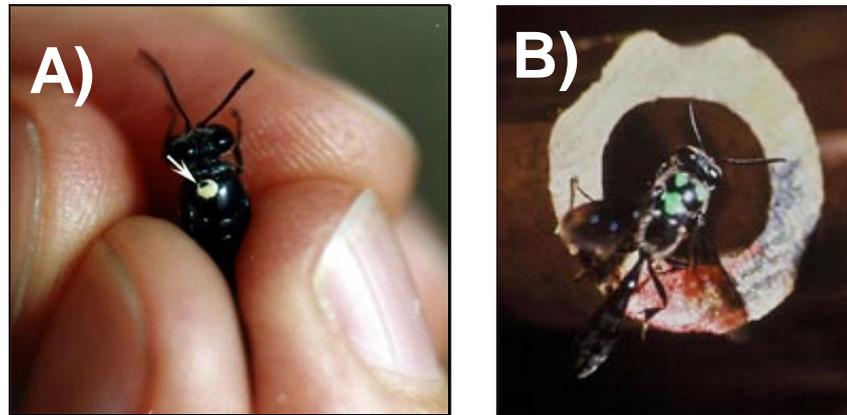


Figura 8. Em (A), machos de *Trypoxylon rogenhoferi* marcado com tinta à base de nitrocelulose (seta) e posteriormente liberado em área de nidificação. Diferentes combinações de cores e posições individualizam os espécimes capturados (B).

3.7. Taxa de provisionamento e fecundidade das fêmeas (*T. rogenhoferi*)

Para verificar a relação entre o tamanho da fêmea e a taxa de provisionamento, ninhos ativos foram marcados e as fêmeas fundadoras coletadas e individualizadas com marcas feitas com tinta à base de nitrocelulose. Para receber a marca, cada fêmea foi contida com auxílio de um pedaço de espuma porosa e lâmina de vidro (Figura 9). Com este procedimento, as fêmeas marcadas não tiveram seu comportamento alterado. Antes da liberação da fêmea, foi anotado o CAA. Com uma sonda, verificou-se até onde o ninho tinha sido construído e uma marca correspondente foi feita em sua parede externa. Um intervalo fixo de dois dias foi adotado entre a localização do ninho e sua retirada do campo. Na maioria das vezes, este intervalo era insuficiente para a fêmea completar o ninho. No laboratório, o ninho foi aberto, contado o número de células construídas após a marca da sondagem e contadas e pesadas as aranhas estocadas em cada célula de cria. Como indicadores da taxa de provisionamento foram considerados o número médio de aranhas coletadas por dia, a massa média de aranhas coletadas por dia, o peso médio das aranhas estocadas nas células de cria e o número médio de células completadas por dia, este último servindo também como indicador da fecundidade da fêmea. Estes valores foram comparados com o CAA da fêmea nidificante através de regressão linear.

No período de 23 a 29 de janeiro de 2001 foram realizadas observações do comportamento de nidificação de 23 fêmeas de *T. rogenhoferi* na área de São Carlos e foi adotado como índice de fecundidade o número de ninhos fundados por cada fêmea.

Todos os procedimentos estatísticos empregados foram de acordo com SIEGEL (1956), MANLY (1994), SOKAL & ROHLF (1995) e ZAR (1999).



Figura 9. Forma como os espécimes de *Trypoxylon rogenhoferi* foram sexados e medidos nas áreas de nidificação. (A) Espuma porosa usada para dar suporte aos espécimes enquanto eram imobilizados por uma lâmina de vidro (B).

3.8. Eletroforese

Foram utilizados nas análises genéticas pupas e adultos emergidos no laboratório de *T. rogenhoferi* e pupas de *T. albitarse*. Todo o material permaneceu congelado a -20°C até o momento da realização das análises.

Os dados eletroforéticos foram obtidos através da técnica de eletroforese em sentido horizontal, segundo SMITHIES (1955) em gel de Penetrose 30TM na concentração de 14%. Foram utilizados cabeça e mesossoma (adultos), ou o indivíduo inteiro (pupas) para as análises eletroforéticas, após terem sido macerados em solução de 2-mercaptoetanol 0,2% com auxílio de bastão de vidro. O volume desta solução foi de 100 μl (adultos) ou 200 μl (pupas). Em seguida, os macerados foram centrifugados a 8000g durante 10' à temperatura ambiente. Os sobrenadantes obtidos foram embebidos em papel Whatman n.º.3 (5x7mm) e aplicados no gel.

As misturas de reação utilizadas para detecção da atividade dos diferentes sistemas enzimáticos foram preparadas de acordo com HARRIS & HOPKINSON (1976). Para a revelação da atividade enzimática, o gel permaneceu em estufa a 37°C até que as regiões de atividade estivessem bem definidas.

3.9. Medidas de variabilidade

As análises eletroforéticas permitiram estimar algumas medidas de variabilidade genética. Foram calculados o grau de polimorfismo (critério de 99%), a proporção de heterozigotos observados em cada loco, a heterozigosidade média observada (contagem direta) e o número médio de alelos por loco. Para o cálculo destas estimativas foram usados os programas BIOSYS-2, uma modificação do programa BIOSYS-1 (SWOFFORD &

SELANDER 1981) e POPGENE (YEH et al. 1999). No caso de *T. rogenhoferi*, foram considerados nas análises adultos e pupas da população de São Carlos e apenas adultos da população de Luís Antônio, sendo os resultados apresentados separadamente.

Tabela 1. Tampões e condições das corridas eletroforéticas utilizados nas análises de *Trypoxylon albitarse* e *Trypoxylon rogenhoferi*.

Código	Sistema	Tampão da Cuba (eletrodos)	Tampão do gel	Condição de corrida (Amperagem; Tempo: h:min)
A	TC 7,5	Tris 100mM + ácido cítrico 28mM, pH7,5	Diluição 8x	55mA; 5:00h
B	TC 8,0	Tris 250mM + ácido cítrico 57mM, pH8,0	Tris 0,017M + ácido cítrico 0,0023M, pH8,0	55mA; 5:00h
C	TC 8,0	Borato 300mM; pH8,0	Tris 0,017M + ácido cítrico 0,0023M, pH8,0	30mA; 4:00h
D	TEMM 7,4	Tris 100mM + anidrido maléico 100mM + MgCl ₂ 10M+ EDTA 10mM, pH7,4	Diluição 10x	85mA; 5:00h
E	HIST 6,6	Tris 150mM + ácido cítrico 50mM pH6,6+ 1,0ml de NADP ⁺ no cátodo	Histidina 5,0mM; ajuste até pH 6,0 com tris 1,0M + 1,0ml de NADP	50mA; 5:00h
F	AMINO CITRATO 6,1	Ácido cítrico 40mM; ajuste pH 6,1 c/ aminomorfolina	Diluição 19x	55mA; 5:00h
G	TRIS-FOSFATO 8,0	Tris 100mM + Fosfato de sódio 100mM, pH 8,0	Diluição 10x	75mA; 5:00H

Tabela 2. Sistemas enzimáticos, sua classificação e abreviação de acordo com a “Enzyme Commission” (EC) e o sistema tampão (ver Tabela 1) utilizados nas análises eletroforéticas realizadas. ‘I’ indica resolução insatisfatória ou sistema de difícil determinação do padrão eletroforético; ‘S’ indica resolução satisfatória e ‘S*’ indica que apesar de satisfatório o sistema não foi amplamente utilizado pela baixa frequência de polimorfismo. Sistemas efetivamente utilizados são indicados por (A) para *T. albitarse* e (R) para *T. rogenhoferi*.

Sistema enzimático	Classificação	Tampão	Resolução
Aconitase	Acon – EC 4.2.1.3	D	I
Adenilatoquinase	Ak – EC 2.7.4.3	C	S*
Aspartato aminotransferase	Aat – EC 2.6.1.1	D	S*
Diaforase	Dia – EC 1.8.1.4	C	I
Enzima málica ^(R)	Me – EC 1.1.1.40	E	S
Esterase ^(A,R)	Est – EC 3.1.1.1	A, B, D, E, F	S
Fosfatase ácida	Acp – EC 3.1.3.2	D	I
Fosfatase alcalina	Akp – EC 3.1.3.1	E	I
Fosfoglicomutase ^(A,R)	Pgm – EC 2.7.5.1	D	S
Fosfohexose isomerase ^(A,R)	Gpi – EC 5.3.1.9	C	S
6-Fosfogliconato desidrogenase ^(A,R)	6-Pgdh – EC 1.1.1.44	E	I
Fumarase	Fum – EC 4.2.1.2	G	S*
Glicose-6-fosfato desidrogenase ^(R)	G6pdh – EC 1.1.1.49	A	S
Glutamato-piruvato transaminase	Gpt – EC 2.6.1.2	D	S*
Hexoquinase	Hk – EC 2.7.1.1	D	I
Isocitrato desidrogenase ^(A,R)	Icd – EC 1.1.1.42	E	S
Leucil amonipeptidase ^(A,R)	Lap – EC 3.4.11.1	A	S
Malato desidrogenase ^(A,R)	Mdh – EC 1.1.1.37	F	S
Peptidase ^(A,R)	Pep – EC 3.4.xx	C	S
Piruvatoquinase	Pk – EC 2.7.1.40	B	S*
Purina nucleosídeo fosforilase	NP – EC 2.4.2.1	D	I
Superóxido dismutase	Sod – EC 1.15.1.1	D	I
α-Glicerofosfato desidrogenase	αGpdh – EC 1.1.1.8	B	S
α-Glicosidase	αGlu – EC 3.2.1.20	D	I
β-Galactosidase	βGal – EC 3.2.1.23	D	I
β-Hidroxibutirato desidrogenase	βHbdh – EC 4.1.3.2	B, D	I

3.10. Estrutura populacional

Para verificar a diferenciação genética intra e interpopulacional de *T. rogenhoferi* e de *T. albitarse* foi utilizada a estatística-F (WEIR & COCKERHAM 1984). Esta estatística assume três parâmetros: (1) F_{IS} , o qual mensura a correlação de alelos homozigotos de um indivíduo em relação a subpopulação daquele indivíduo (podendo assim ser considerado uma medida da endogamia local); ele varia de menos um a mais um; (2) F_{ST} , o qual mede a variância da frequência alélica entre as subpopulações (sendo assim, uma medida da subdivisão da população); ele varia de zero a um e (3) F_{IT} , o qual é a correlação entre os genes de um indivíduo e aqueles da população total (assim, constituindo uma medida da endogamia local e subdivisão da população); ele varia de menos um a mais um. Valores semelhantes a zero indicam a não significância de qualquer um dos três parâmetros. Usou-se o programa GDA (LEWIS & ZAYKIN 2001) para o cálculo desses parâmetros e sua significância foi verificada aplicando-se 'bootstrap' sobre locos para determinação do intervalo de confiança de 95%.

No caso de *T. rogenhoferi*, considerou-se a população como sendo formada por todos indivíduos amostrados (adultos ou pupas) nos conjuntos de ninhos-armadilha (os grupos de ninhos apresentados na Figura 6A) presentes na área de nidificação (calculou-se assim F_{IT}). Como cada conjunto de ninhos é fundado por algumas fêmeas, a prole produzida em cada conjunto foi considerada uma subpopulação dentro da área de nidificação (calculou-se assim F_{ST}) (CHAPUISAT et al. 1997).

Para *T. albitarse*, a estruturação prévia da população foi feita considerando-se população todos os indivíduos amostrados em ninhos de diferentes galpões de ordenha da Fazenda Canchim (Figura 7) e assumiu-se que cada galpão potencialmente poderia alojar uma subpopulação.

3.11. Parentesco intranidal

O parentesco intranidal entre as fêmeas produzidas em um ninho, para ambas as espécies, foi utilizado como parâmetro para estimativa de paternidade. O parentesco e seu erro padrão foram calculados usando o método de QUELLER & GOODNIGHT (1989) com o programa RELATEDNESS 4.2c. As estimativas de parentesco foram calculadas utilizando-se ninhos em que, pelo menos, duas fêmeas foram amostradas e atribuindo-se peso igual para todos os ninhos.

O método de QUELLER & GOODNIGHT (1989) exige que haja fraca ou nenhuma seleção atuando sobre os marcadores utilizados na análise de parentesco. A presença de seleção foi testada de duas maneiras. 1) verificando se as frequências alélicas nos locos polimórficos estavam de acordo para o esperado quando em equilíbrio de Hardy-Weinberg, para isso apenas genótipos diplóides foram usados; 2) verificando a ocorrência

de desequilíbrio de ligação entre os locos polimórficos tomados dois a dois. Para isso foi selecionado ao acaso um macho (genótipo haplóide representando a frequência gamética) de cada ninho utilizado na análise de parentesco. A ocorrência de desequilíbrio de ligação pode indicar seleção ou proximidade física de locos em um cromossomo; em ambos os casos, a informação contida nos dados pode ser superestimada e resultar em estimativas de parentesco incorretas (HILL 1974, CHAPMAN & CRESPI 1998).

Foram analisados 51 ninhos (206 indivíduos) de *T. rogenhoferi* em São Carlos e 17 ninhos (49 indivíduos) em Luís Antônio. Para esta espécie, os resultados obtidos com adultos e pupas são apresentados separadamente. De *T. albitarse* foram analisados 20 ninhos (162 indivíduos).

Na população de *T. albitarse*, quatro locos polimórficos forneceram os marcadores necessários para a análise de parentesco (Tabela 3). Para a população de *T. rogenhoferi* de São Carlos, três e oito locos polimórficos (em adultos e pupas, respectivamente) foram usados nessa análise e para a população de Luís Antônio, sete marcadores (amostrados em adultos) (Tabela 6 e 7).

Os cálculos de equilíbrio de Hardy-Weinberg e de desequilíbrio de ligação foram feitos segundo WEIR (1996) usando-se o programa GDA (LEWIS & ZAYKIN 2001). A significância dos valores de parentesco foi verificada através dos cálculos de intervalo de confiança de 95% (ZAR 1999).

4. RESULTADOS

4.1. *Trypoxylon albitarse*

4.1.1. Ninhos, razão sexual e investimento materno

Foram escavados 187 ninhos de *T. albitarse*, representando 2220 células. 144 ninhos foram considerados velhos (paredes erodidas e/ou cobertos por teias de aranha) e 43 novos (paredes sem sinal de erosão e não cobertos por teias de aranha). Apenas 25 ninhos tinham casulos viáveis de onde foram amostradas 162 pupas, 89 de machos e 73 de fêmeas (1,20:1 ± 0,04EP binomial), o que não diferiu de 1:1 ($\chi^2_{0,05;1} = 1,58$; $p = 0,21$). Porém, considerando-se o peso ao emergir, o investimento foi maior (55,2% ou 1,22:1) em fêmeas ($\chi^2_{0,05;1} = 11,98$; $p < 0,001$).

O número de células em cada ninho variou de uma a 16 (média 4 ± 3SD; moda 4, $n = 32$). Na população amostrada, foram produzidos machos em maior número na terceira célula ($\chi^2_{0,05;4} = 13,58$; $p < 0,01$), mas estas não apresentaram volume diferente das demais ($t_{0,05(2);64} = 1,06$; $p > 0,05$).

Todas as medidas tomadas em *T. albitarse* seguiram distribuição normal (Kolmogorov-Smirnov; $p > 0,10$ para todas as variáveis), assim, testes paramétricos foram usados nas comparações seguintes. O CAA de machos e fêmeas correlaciona-se com o peso do adulto ao emergir (machos: $r = 0,75$; $n = 30$; $p < 0,001$; fêmeas: $r = 0,54$; $n = 23$; $p < 0,01$). O volume das células que produziram fêmeas não diferiu do volume daquelas que produziram machos ($t_{0,05(2);34} = 1,41$; $p > 0,05$). Entretanto, as fêmeas foram maiores (CAA: 13,31mm ± 0,82DP; peso: 102,26mg ± 18,32DP) do que os machos (CAA: 11,92mm ± 0,81DP; peso: 84,80mg ± 20,01DP) (CAA: $t_{0,05(1);99} = 8,53$; $p < 0,0001$; peso: $t_{0,05(1);51} = 3,37$; $p < 0,01$).

4.1.2. Análises genéticas

4.1.2.1. Medidas de variabilidade

Nove locos enzimáticos foram amostrados nesta espécie, seis (66,7%) apresentaram-se polimórficos. Os dados sobre variabilidade genética na população de *T. albitarse* amostrada estão sumariados na tabela 3.

A heterozigiosidade intraloco (H_i) variou de 0,014 (*Mdh*) a 0,585 (*Est-2*). A heterozigiosidade média (H , contagem direta) foi de 0,1737 ($\pm 0,1831$ DP; $n = 71$), valor estatisticamente maior do que o encontrado no restante de Hymenoptera (0,051 $\pm 0,049$ DP; $n = 69$) (teste t de valor único comparado com amostra, SOKAL & ROHLF 1995, pg. 227-228, $p < 0,001$; dados de HALLDAY 1981, WAGNER & BRISCOE 1983, KUKUK & MAY 1985, GRAUR 1985, ROSS et al. 1987, PACKER & OWEN 1990, PACKER et al. 1992, SHOEMAKER et al. 1992, ROSENMEIER & PACKER 1993, KUKUK & SAGE 1994, CHAPMAN & STEWART 1996, BOATO & BATTISTI 1996, TAKAHASHI et al. 2001).

Tabela 3. Freqüências alélicas (F, M, S e S+: mobilidade relativa) para cada loco polimórfico amostrado em *Trypoxylon albitarse*. Os indivíduos foram amostrados em ninhos naturais presentes em São Carlos (Faz. Canchim, EMBRAPA). 'N' = número de indivíduos (pupas) amostrados; ' H_i ' = proporção de heterozigotos observados em cada loco; 'P' = grau de polimorfismo pelo critério de 99%; 'H' = heterozigiosidade média observada (contagem direta); 'A' = número médio de alelos por locos. Apenas genótipos diplóides foram usados nos cálculos; 'DP' = desvio padrão.

N	Locos	Alelos				H_i	P (99%)	H (\pm DP)	A (\pm DP)
		F	M	S	S +				
68	<i>Gpi</i>	0,507		0,493		0,500	66,7%	0,17 ($\pm 0,18$)	1,43 ($\pm 0,51$)
73	<i>Est-2</i>	0,164	0,569	0,253	0,014	0,585			
73	<i>6-Pgd</i>	0,836		0,164		0,274			
73	<i>Mdh</i>	0,007		0,993		0,014			
67	<i>Pgm-2</i>	0,709		0,291		0,413			
68	<i>Pgm-3</i>	0,029	0,861	0,110		0,246			

Locos monomórficos: *Lap*, *Pep* e *Icd*.

4.1.2.2. Estrutura populacional

A população amostrada de *T. albitarse* mostrou-se estruturada. O valor dos estimadores F_{IT} (0,25; estatisticamente diferente de zero $IC_{95\%} = 0,09$ a 0,41) e F_{ST} (0,10; estatisticamente diferente de zero $IC_{95\%} = 0,03$ a 0,18) indicam que há desvio da panmixia na população estudada (Figura 10), decorrente possivelmente do comportamento filopátrico desta espécie. O valor do estimador F_{IS} (0,17, o que não difere estatisticamente de zero; $IC_{95\%} = -0,05$ a 0,35) sugere que a filopatria pode não ser igual para ambos os sexos, já que

os indivíduos não têm sua heterozigosidade reduzida em decorrência de acasalamentos endogâmicos, o que seria esperado em populações onde machos e fêmeas de um mesmo ninho (irmãos e irmãs) apresentassem filopatria acentuada.

A subdivisão da população (F_{ST}) da população de *T. albitarse* também pode ser observada na figura 11. A distribuição dos diferentes alelos dos sistemas enzimáticos amostrados é apresentada nas tabelas 4 e 5. A subpopulação mais diferenciada é a do galpão 4, onde encontramos o maior valor de heterozigosidade observada (0,33) em relação aos demais. Na subpopulação ‘ponte’, foi detectado um alelo privado (fenótipo F em *Mdh*).

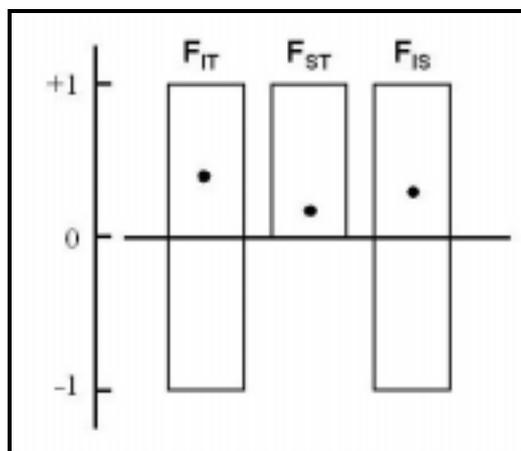


Figura 10. Três níveis da estatística-F obtidos do estudo eletroforético de alozimas de *Trypoxylon albitarse*. O comprimento dos retângulos indica os valores possíveis dos três parâmetros da estatística (eixo y), os símbolos representam os valores estimados. Os resultados mostram que o desvio da panmixia ($F_{IT} = 0,25$; significativamente diferente de zero; $F_{IT(1C95\%)} = 0,09$ a $0,41$) encontrado nesta espécie possivelmente está relacionado ao comportamento filopátrico, indicado pelo estimador F_{ST} ($0,10$; significativamente diferente de zero; $F_{ST(1C95\%)} = 0,03$ a $0,18$) e não a cruzamentos não-casualizados que poderiam ocorrer nas áreas de nidificação ($F_{IS} = 0,17$; estatisticamente igual a zero; $F_{IS(1C95\%)} = -0,05$ a $0,35$). Os intervalos de confiança de 95% foram calculados aplicando-se ‘bootstrap’ sobre locos.

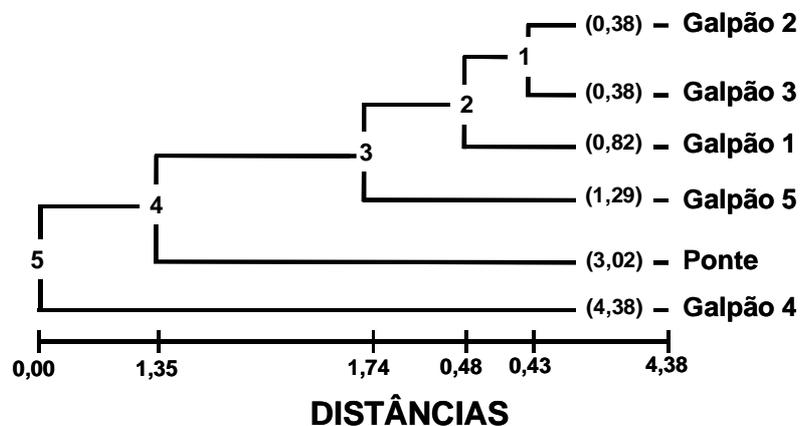


Figura 11. Dendrograma mostrando a relação entre as subpopulações de *Trypoxylon albitarse* amostradas em São Carlos. As relações estão baseadas na distância genética de NEI (1978) aplicando-se o método de UPGMA. Os valores na barra indicam a distância entre dois nós consecutivos, entre parênteses está a distância entre a população amostrada e seu nó de origem.

Tabela 4. Genética descritiva de *Trypoxylon albitarse* em diferentes pontos de amostragem em São Carlos (SP). Os galpões localizam-se na Fazenda Canchim (EMBRAPA) e a ponte está a 40Km dali. 'n', número de indivíduos (pupas de fêmeas) amostrados em cada local; 'P', polimorfismo encontrado (critério de 99%); 'A', número médio de alelos por loco em cada local; 'H', heterozigiosidade média observada por loco em cada local (contagem direta); entre parênteses, o desvio padrão.

Subpopulação	n	P(%)	A	H
Galpão 1	11	44,44	1,67 (\pm 0,33)	0,137 (\pm 0,068)
Galpão 2	4	44,44	1,44 (\pm 0,18)	0,194 (\pm 0,108)
Galpão 3	30	55,56	1,78 (\pm 0,28)	0,145 (\pm 0,058)
Galpão 4	10	55,56	1,67 (\pm 0,24)	0,325 (\pm 0,137)
Galpão 5	13	55,56	1,89 (\pm 0,35)	0,145 (\pm 0,058)
Ponte	5	33,33	1,44 (\pm 0,24)	0,178 (\pm 0,113)

Tabela 5. Frequências alélicas encontradas em *Trypoxylon albitarse* em São Carlos (SP). Os 'galpões' encontram-se na Fazenda Canchim (EMBRAPA; Figura 7) e a população 'ponte' encontra-se a 40Km dali.

		ALELOS	LOCOS								
			GPI	EST2	ICD	6PGD	MDH	LAP	PEP	PGM2	PGM3
SUBPOPULAÇÃO	Galpão 1	A	0,75	0,09	1,00	0,91		1,00	1,00	0,65	
		B	0,25	0,28		0,09	1,00			0,35	
		C		0,59							1,00
		D		0,04							
	Galpão 2	A	0,50		1,00	1,00		1,00	1,00	0,87	0,13
		B	0,50	0,13			1,00			0,13	
		C		0,87							0,87
		D									
	Galpão 3	A	0,59	0,15	1,00	0,93		1,00	1,00	0,67	0,02
		B	0,41	0,22		0,07	1,00			0,33	0,09
		C		0,63							0,89
		D									
	Galpão 4	A	0,83	0,05	1,00	0,60		1,00	1,00	0,89	
		B	0,17	0,50		0,40	1,00			0,11	0,44
		C		0,45							0,56
		D									
Galpão 5	A	0,50	0,35	1,00	0,62		1,00	1,00	0,62	0,08	
	B	0,50	0,08		0,38	1,00			0,38	0,08	
	C		0,54							0,84	
	D		0,03								
Ponte	A		0,30	1,00	1,00	0,10	1,00	1,00	0,80		
	B	1,00	0,50			0,90			0,20		
	C		0,20							1,00	
	D										

4.1.2.3. Parentesco intranidal

Dos seis locos polimórficos amostrados em *T. albitarse* (Tabela 3), dois (*Gpi* e *Pgm-2*) não encontravam-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg, assim não puderam ser utilizados nos cálculos de parentesco (QUELLER & GOODNIGHT 1989). Não foi detectado desequilíbrio de ligação entre os locos polimórficos encontrados.

Na população estudada desta espécie, a paternidade da prole feminina pode ser atribuída ao guarda do ninho em muitos casos. Em pelo menos 87,5% dos ninhos amostrados os valores de parentesco não foram estatisticamente diferentes de 0,75 (intervalo de confiança de 95%). Este valor é esperado quando a progênie feminina do ninho é formada por irmãs completas, isto é, quando a mãe é acasalada uma única vez com um único macho. Entretanto, para alguns ninhos, os valores de parentesco também não diferiram de zero (Tabela 6).

Tabela 6. Parentesco médio entre fêmeas de *Trypoxylon albitarse* que emergiram de mesmo ninho. 'N' indica o número de fêmeas analisadas em cada ninho; 'R(\pm EP)' o grau de parentesco médio e seu erro padrão (Jackknife sobre ninhos); 'IC95%' intervalo de confiança de 95%.

NINHO	N	R(\pm EP)	IC95%
g1n20	2	0,79(\pm 0,21)	0,34 a 1,00
g1n27	4	0,90(\pm 0,21)	0,45 a 1,11
g1n9	3	0,72(\pm 0,25)	0,19 a 0,97
g2n23	4	0,84(\pm 0,08)	0,67 a 0,92
g3n19	9	0,75(\pm 0,25)	0,22 a 1,00
g3n23	4	0,90(\pm 0,09)	0,71 a 0,99
g3n24	7	0,15(\pm 0,47)	-0,85 a 0,62
g3n27	3	0,72(\pm 0,25)	0,19 a 0,97
g3n29	5	0,13(\pm 0,77)	-1,51 a 0,90
g3n30	2	1	
g4n13	7	1	
g5n20	2	0,82(\pm 0,17)	0,46 a 0,99
g5n24	3	0,85(\pm 0,25)	0,32 a 1,10
g5n3	6	0,21(\pm 0,22)	-0,26 a 0,43
g5n41	2	0,35(\pm 0,57)	-0,87 a 0,92
ponte	5	0,08(\pm 0,67)	-1,35 a 0,75

4.1.2.4. Associação de ninhos

Através das análises eletroforéticas, verificou-se a associação de ninhos em *T. albitarse* (Tabela 7). Muitas vezes, estas associações puderam ser percebidas no momento da coleta do ninho pelo uso de barro de fontes diferentes (Figura 12). Pela análise eletroforética, a associação foi caracterizada pela presença de fenótipos haplóides (machos) ou diplóides (fêmeas) homozigotos incompatíveis entre si. A ocorrência de fenótipos incompatíveis entre a prole feminina também poderia ser indicativo de acasalamento múltiplo, mas não temos dados para afirmar isto. Além disso, as observações feitas na área de coleta dos ninhos de *T. albitarse* indicam que ao longo do tempo a associação de ninhos é frequente. Vale dizer que estas associações ocorrem somente quando a fêmea que iniciou a construção de um tubo o termina e/ou abandona o local. Construção simultânea de ninhos não ocorre nas espécies desse grupo (AMARANTE 1991a, BROCKMANN 1992, MOLUMBY 1997).

Tabela 7. Ninhos cujos resultados aloenzimáticos indicam associação de ninhos em *Trypoxylon albitarse*. Fenótipos haplóides são machos e diplóides fêmeas. Entre parênteses o sistema enzimático em que a associação foi detectada.

Ninho	Associação de ninhos de duas ou mais fêmeas ^A	
	Três alelos presentes em machos e em fêmeas homo/heterozigotas	
g3n29	F, M, S, FF FS, FS, SS, SS	(<i>Est-2</i>)
g3n29	F, M, S, FM, MM, MM MS, MS	(<i>Pgm-3</i>)

^A Fenótipos ordenados de acordo com o sexo

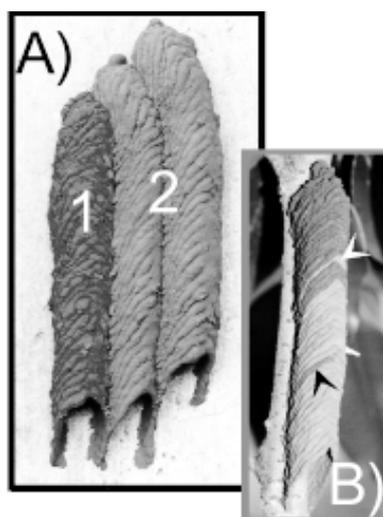


Figura 12. Ninhos de *Trypoxylon albitarse*. Em (A) é possível observar a associação de duas fêmeas nidificantes: 1 (um ninho com um tubo) e 2 (um ninho com dois tubos). A coloração diferente do barro utilizado na construção de cada ninho é bom indicativo da associação (AMARANTE 1991a). Em (B) vê-se um ninho construído por uma única fêmea. Neste caso, a coloração diferente do barro ao longo do tubo (setas) indica que a fonte de substrato não era homogênea.

4.2. *Trypoxylon rogenhoferi*

Foram amostrados 306 ninhos desta espécie, correspondendo a 908 células, 57,6% amostradas em São Carlos e o restante em Luís Antônio. Nesta população, as taxas de parasitismo foram elevadas (52% dos ninhos fundados; em São Carlos, 4,6%). Em Luís Antônio, as mortes causadas por falha no desenvolvimento foram 26,4%, em São Carlos, 22,3%.

4.2.1. Volume da célula de cria e aranhas estocadas

Os caracteres de tamanho de corpo, peso das aranhas estocadas e volume das células de cria seguiram distribuição normal para ambos os sexos de *T. rogenhoferi* (Kornolgorov-Smirnov; $p > 0,20$ para todos os testes).

O volume da célula de cria foi significativamente correlacionado com o peso úmido ($r = 0,43$; $p < 0,0001$; $gl = 316$) e número ($r = 0,21$; $p < 0,001$; $gl = 272$) das aranhas provisionadas. Também houve correlação entre a massa e o número de aranhas estocadas ($r = 0,26$; $p < 0,0001$; $gl = 272$).

4.2.2. Razão e alocação sexual

A razão sexual secundária encontrada na população de São Carlos foi 261 fêmeas para 183 machos, ou 1,43:1 ($\pm 0,02EP$), o que diferiu estatisticamente de 1:1 ($\chi^2_{(1)} = 13,7$; $p < 0,01$). Considerando-se o peso ao emergir, observou-se que em São Carlos 61,3% do investimento foi em fêmeas (ou 1,59:1; o que difere de 1:1; $p < 0,001$). Na população amostrada em Luís Antônio, a razão sexual foi de 147 machos para 124 fêmeas, ou 1,19:1 ($\pm 0,03EP$), o que não diferiu de 1:1 ($\chi^2_{(1)} = 1,95$; $p = 0,16$). Considerando-se o peso ao emergir, neste local, observou-se 50,3% do investimento em machos (ou 1,01:1; o que não difere de 1:1; $p = 0,87$).

Não foram encontradas evidências de que a razão sexual variou entre os ninhos amostrados. O teste qui-quadrado de heterogeneidade mostrou-se não significativo, assumindo uma distribuição aleatória da razão sexual entre os ninhos amostrados ($\chi^2_{(13)} = 19,37$; $p = 0,11$ para os ninhos de São Carlos e $\chi^2_{(14)} = 9,86$; $p = 0,77$ para os ninhos de Luís Antônio).

Nas duas populações amostradas verificou-se a tendência de ninhos-armadilha de diâmetro menor produzirem maior número de machos. Entretanto, a razão sexual foi influenciada por este fator apenas em Luís Antônio ($F_{0,05(1), 1,35} = 5,89$) (Figura 13), onde o diâmetro médio dos ninhos utilizados foi menor do que em São Carlos (Mann-Whitney, $Z = -3,39$; $p < 0,01$). Porém, os ninhos-armadilha lá instalados apresentaram maior coeficiente de variação ($CV = 24,0\%$) do que os de Luís Antônio (7,8%) (teste Z ; $p < 0,0001$).

4.2.3. Volume da célula de cria e tamanho do adulto

As duas populações estudadas apresentaram valores semelhantes para os dados de tamanho de corpo e volume de células de cria; assim, os resultados dessas variáveis são apresentados conjuntamente.

O peso e o tamanho do adulto de ambos os sexos foram função do volume da célula de cria onde eles foram produzidos (Figura 14). Os machos foram menores do que as fêmeas ($t_{0,05; (2); 579} = 11,3$; $p < 0,001$; Figura 14) e foram produzidos preferencialmente em células de menor volume (Figura 15).

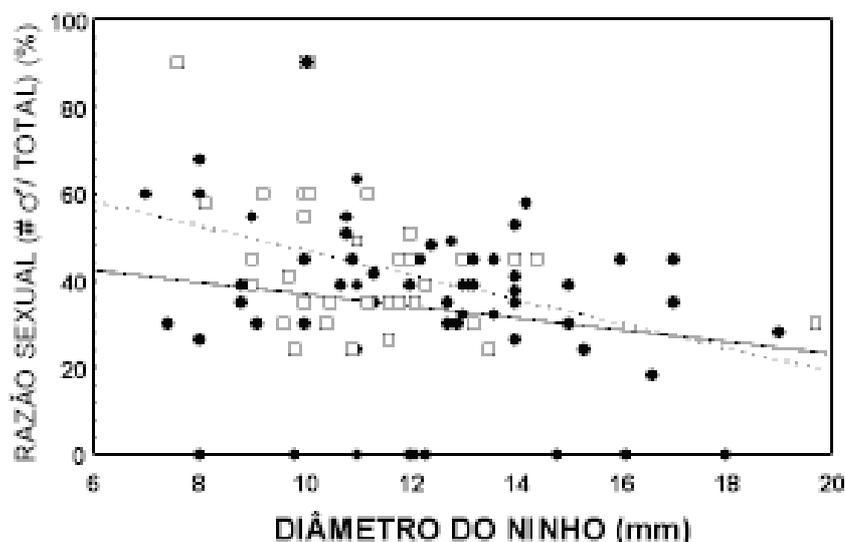


Figura 13. Regressão linear mostrando a influência do diâmetro dos ninhos-armadilha utilizados em São Carlos (círculos preenchidos; linha sólida) e em Luís Antônio (quadrados; linha tracejada) sobre a razão sexual de *Trypoxylon rogenhoferi*. Em Luís Antônio o diâmetro dos ninhos utilizados influenciou a razão sexual ($y = -2,8x + 75,02$; $F = 5,89$; $gl = 35$; $p < 0,05$), o que não aconteceu em São Carlos ($y = -1,4x + 50,50$; $F = 2,39$; $gl = 35$; $p > 0,05$). Os dados de razão sexual foram transformados (arcoseno) para a análise.

4.2.4. Investimento materno

Nas duas populações amostradas, as fêmeas apresentaram padrões variáveis de provisionamento para a prole feminina e masculina, o que pode ter resultado em variações intrafamiliares (nidais) no tamanho do corpo. Para a progênie feminina e masculina das fêmeas de Luís Antônio houve variação intrafamiliar significativa para o CAA e volume da célula de cria (ANOVA; fêmeas: $F = 2,1$; $gl = 25$; $p < 0,05$ para CAA; $F = 67,12$; $gl = 20$; $p < 0,001$ para volume da célula de cria; machos: $F = 1,83$; $gl = 31$; $p < 0,05$ para o CAA; $F = 8,6$; $gl = 18$; $p < 0,001$ para volume da célula de cria), e ainda para a progênie feminina houve variação intrafamiliar para o peso do adulto ao emergir ($F = 2,35$; $gl = 16$; $p < 0,05$) o que não aconteceu para a prole masculina ($F = 0,92$; $gl = 46$; $p > 0,05$). Em São Carlos, para a progênie feminina e masculina, houve variação intrafamiliar significativa para o CAA e volume da célula de cria (ANOVA; fêmeas: $F = 2,6$; $gl = 53$; $p < 0,001$ para CAA; $F = 38,14$; $gl = 29$; $p < 0,001$ para volume da célula de cria; machos: $F = 2,39$; $gl = 38$; $p < 0,01$ para CAA; $F = 8,6$; $gl = 18$; $p < 0,001$ para volume da célula de cria), mas não para o peso do adulto ao emergir (ANOVA; fêmeas: $F = 1,61$; $gl = 15$; $p > 0,05$; machos: $F = 0,94$; $gl = 10$; $p > 0,05$).

O tamanho da fêmea influenciou o tamanho da progênie feminina. Houve regressão linear significativa entre o CAA médio da prole feminina versus o CAA materno. Entretanto, não houve influência do tamanho da mãe sobre o tamanho da progênie masculina. Por fim, não houve relação entre os tamanhos das progênies feminina e masculina (Figura 16).

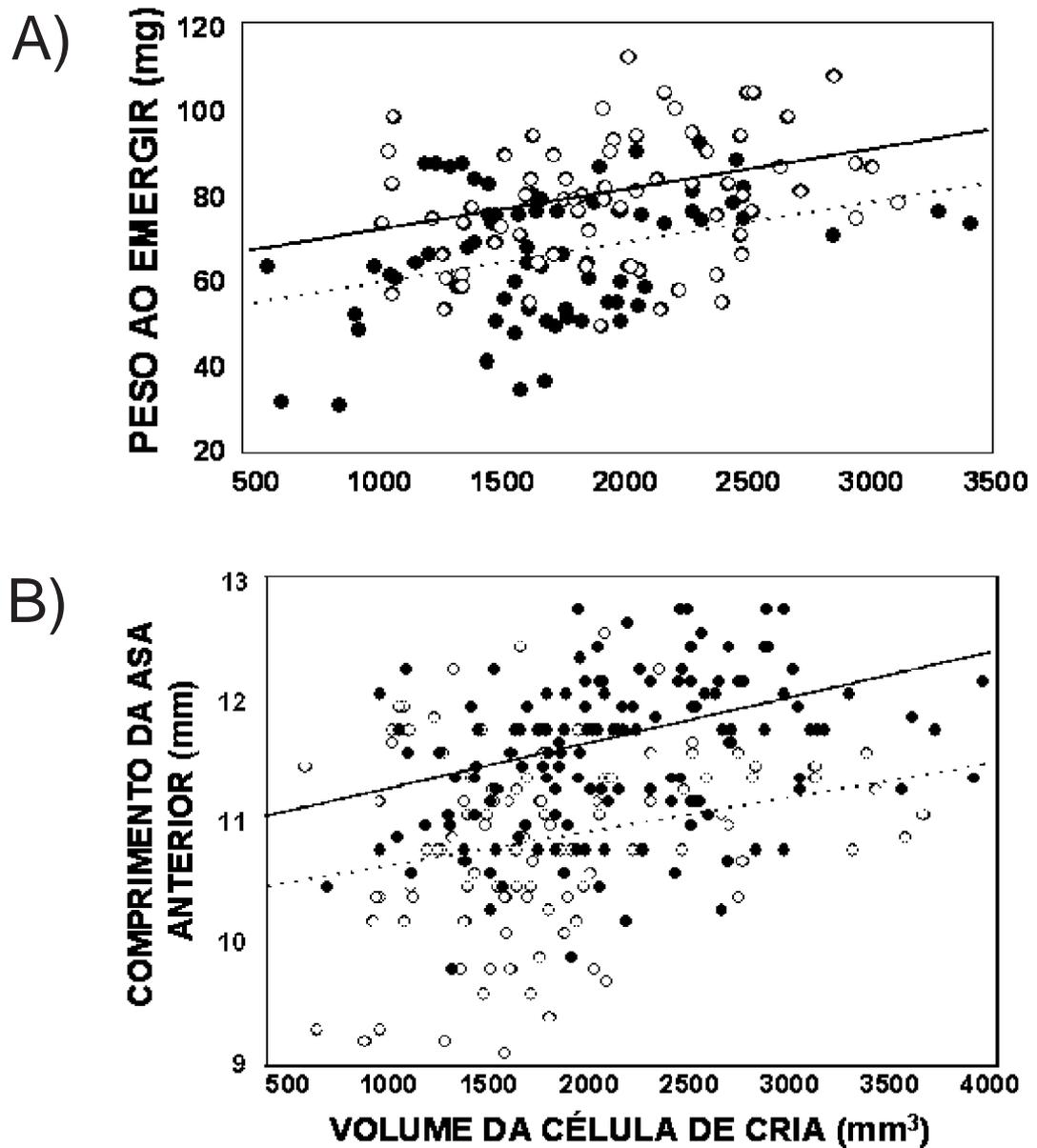


Figura 14. Gráficos mostrando a relação entre (A) o volume da célula de cria e o peso ao emergir e (B) o volume da célula de cria e o comprimento da asa anterior em *Trypoxylon rogenhoferi*. Círculos preenchidos indicam fêmeas; círculos vazios, machos. Regressões lineares significativas ($p < 0,05$) são indicadas pelas linhas sólidas (fêmeas) e tracejadas (machos). (A) Fêmeas: $y = 0,009x + 68,7$; $r = 0,29$; $F = 6,3$; $gl = 71$; $p < 0,05$. Machos: $y = 0,01x + 54,8$; $r = 0,34$; $F = 8,7$; $gl = 69$; $p < 0,001$. Os interceptos de fêmeas e machos diferem significativamente ($p < 0,05$). (B) Fêmeas: $y = 0,00052x + 10,94$; $r = 0,23$; $F = 24,6$; $gl = 106$; $p < 0,001$. Machos: $y = 0,00033x + 10,49$; $r = 0,31$; $F = 10,10$; $gl = 149$; $p < 0,01$. Os interceptos de fêmeas e machos diferem significativamente ($p < 0,05$). Há correlação significativa entre o comprimento da asa anterior e o peso ao emergir tanto em fêmeas ($r = 0,77$; $p < 0,05$; $gl = 118$) quanto em machos ($r = 0,76$; $p < 0,001$; $gl = 121$).

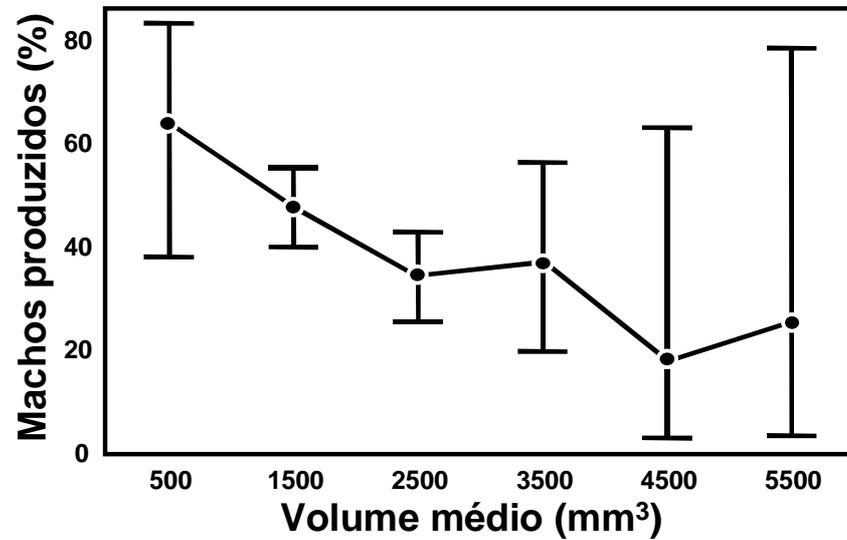


Figura 15. Proporção de machos de *Trypoxylon rogenhoferi* produzidos em seis categorias de volume (mm³) de células de cria. Há correlação significativa entre a proporção de machos produzidos e o volume médio das células de cria (regressão logística; $y = \exp(-0,40x + 0,72) / [1 + \exp(-0,40x + 0,72)]$; $\chi^2_{(1)} = 9,70$; $p < 0,01$). Nas linhas, o ponto representa a proporção média de machos produzidos em cada volume e as barras o intervalo de confiança binomial de 95%.

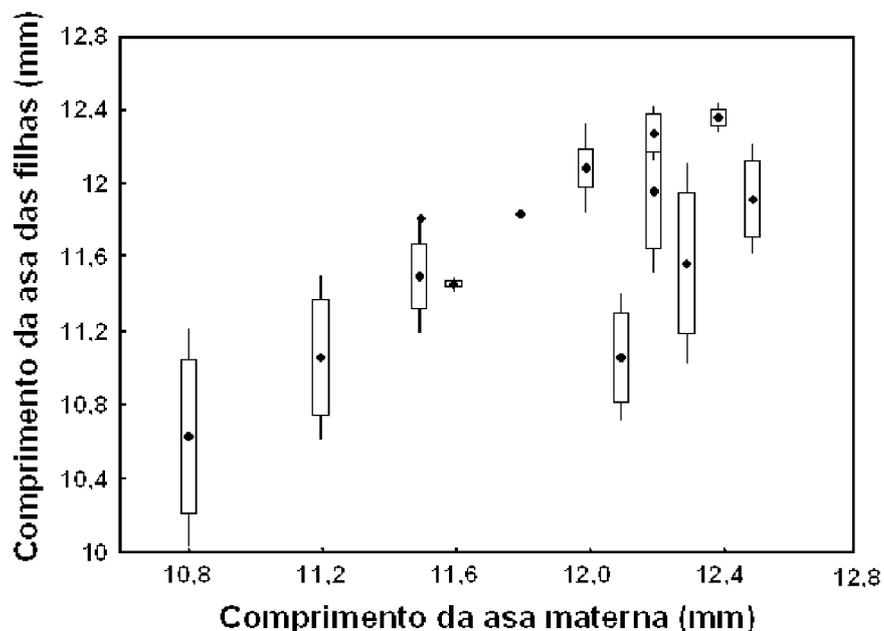


Figura 16. Gráfico do comprimento da asa anterior materna versus o comprimento da asa da progênie feminina de *Trypoxylon rogenhoferi*. Os círculos representam médias. Os retângulos representam o erro padrão e as barras o desvio padrão (famílias com uma única filha são representadas apenas pelo círculo). Houve regressão linear significativa entre a média do comprimento das asas anteriores das filhas e o comprimento da asa anterior materna ($y = 0,73x + 2,99$; $r = 0,73$; $gl = 11$; $p < 0,01$), o que não aconteceu com a progênie masculina ($r = 0,21$; $gl = 14$; $p = 0,44$). Não houve relação entre os tamanhos das progênes feminina e masculina ($r = 0,003$; $p = 0,99$).

4.2.5. Taxas de provisionamento das fêmeas

O tamanho da fêmea influenciou seu sucesso no provisionamento do ninho. Fêmeas maiores coletaram maior massa de aranhas por dia do que fêmeas menores ($y = 0,173x - 1,24$; $r^2 = 0,49$; $F = 12,4$; $gl = 14$; $p < 0,01$; Figura 17). Elas também capturaram aranhas mais pesadas ($r^2 = 0,46$; $y = 0,017x - 0,126$; $F = 13,4$; $gl = 17$; $p < 0,01$) e provisionaram um número maior de células ($r^2 = 0,36$; $y = 0,042x - 2,89$; $8,3$; $gl = 16$; $p < 0,05$). Não houve, porém, relação significativa entre o tamanho da fêmea e o número de aranhas capturadas por dia ($p = 0,40$).

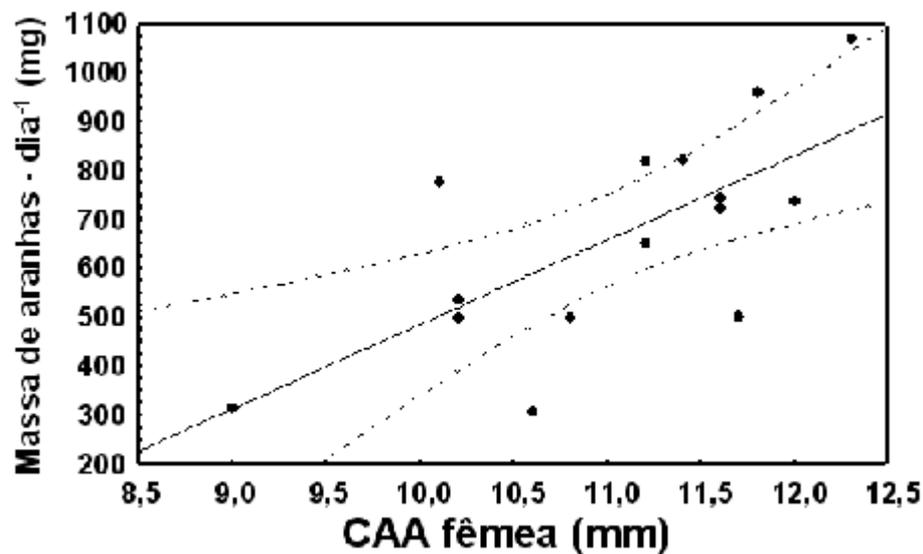


Figura 17. Relação entre a massa de aranhas capturadas por dia e o tamanho da fêmea (CAA) de *Trypoxylon rogenhoferi*. Fêmeas maiores capturam maior massa de aranhas quando comparadas às fêmeas menores ($y = 0,173x - 1,24$; $r^2 = 0,49$; $F = 12,4$; $gl = 14$; $p < 0,01$). A linha tracejada representa o intervalo de confiança de 95%.

4.2.6. Fecundidade

Desprezando-se possíveis diferenças de idade entre as fêmeas observadas, aparentemente, nas populações de *T. rogenhoferi*, a fecundidade das fêmeas é bastante variável. Em São Carlos, num conjunto com 10 ninhos-armadilha, uma única fêmea (#29) foi responsável pela fundação de cinco deles. Possivelmente, poucas fêmeas são responsáveis pela produção da maior parte da prole de uma área (Figura 18). A maior fecundidade (número de ninhos fundados) estaria relacionada ao maior tamanho de corpo (veja o item 4.3.5) e as fêmeas forrageariam até morrerem, não diminuindo sua intensidade de forrageamento com a idade.

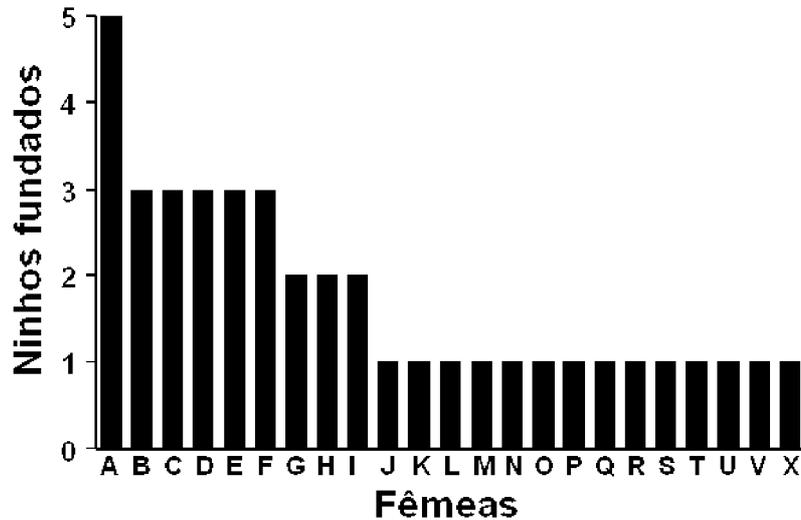


Figura 18. Número de ninhos fundados por 23 fêmeas (A até X) de *Trypoxylon rogenhoferi* em São Carlos. A fecundidade observada (ninhos fundados) está ordenada de forma decrescente.

4.2.7. Residentes e patrulheiros

Na população de *T. rogenhoferi* de Luís Antônio, o tamanho do corpo não foi fator determinante para a obtenção de ninhos ($t = 0,62$; $gl = 36$; $p = 0,53$ para fêmeas; $t = 0,21$; $gl = 86$; $p = 0,83$ para machos). Também não há evidência de seleção estabilizadora operando sobre os residentes ou patrulheiros (machos ou fêmeas) durante o período de estudo (teste de Levene; $F = 0,41$ para machos; $F = 0,42$ para fêmeas; e $p > 0,05$ para ambos).

4.2.8. Análises genéticas

4.2.8.1. Medidas de variabilidade

Considerando-se os indivíduos que emergiram no laboratório, três (25,0%) locos enzimáticos exibiram polimorfismo na população de São Carlos e sete (58,3%) na população de Luís Antônio (Tabela 8). A heterozigosidade intraloco (H_i) variou de 0,025 (*Pgm*) a 0,235 (*Est-2*) em São Carlos, onde a heterozigosidade média (H , contagem direta) foi de 0,034 ($\pm 0,076DP$; $n = 149$). Em Luís Antônio, H_i variou de 0,015 (*Est-1*) a 0,292 (*Est-2*) e H foi de 0,067 ($\pm 0,097DP$; $n = 120$). O valor de H (dados agrupados) encontrado em *T. rogenhoferi* ($0,056 \pm 0,0785 DP$; $n = 269$) não difere estatisticamente do observado no restante de Hymenoptera ($0,051 \pm 0,049DP$; $n = 69$) (teste t de espécime único comparado com amostra, SOKAL & ROHLF 1995, pg. 227-228, $p = 0,92$; fontes dos dados citados anteriormente, pág. 22, §2).

Tabela 8. Frequências alélicas (F, M, S: mobilidade relativa) para cada loco polimórfico encontrado em *Trypoxylon rogenhoferi* (adultos). Os indivíduos foram amostrados em ninhos-armadilha instalados em São Carlos (EMBRAPA) e Luiz Antônio (E. E. Jataí). 'N' = número de indivíduos amostrados; 'H_i' = proporção de heterozigotos observados em cada loco; 'P' = grau de polimorfismo (critério de 99%); 'H' = heterozigosidade média observada (contagem direta); 'A' = número médio de alelos por loco; 'DP' = desvio padrão. Apenas genótipos diplóides foram usados nos cálculos.

População	N	Locos	Alelos			H _i	P (99%)	H (±DP)	A (±DP)
			F	M	S				
São Carlos ^a							25,0%	0,034 (±0,076)	1,42 (±0,79)
	81	<i>Est-1</i>	0,525	0,099	0,377	0,148			
	81	<i>Est-2</i>	0,327	0,586	0,086	0,235			
	81	<i>Pgm</i>	0,012		0,988	0,025			
EEJ ^b							58,3%	0,067 (±0,097)	1,67 (±0,65)
	65	<i>Est-1</i>		0,008	0,992	0,015			
	65	<i>Est-2</i>	0,808	0,177	0,015	0,292			
	64	<i>Pgm</i>	0,055		0,945	0,109			
	60	<i>Mdh</i>	0,925		0,075	0,150			
	63	<i>Mdh^m</i>	0,984		0,016	0,032			
	64	<i>Icd</i>	0,906		0,094	0,186			
	60	<i>Pep</i> (Leu-Ala)	0,992		0,008	0,017			

Locus monomórficos. (a): α Gpdh-1, α Gpdh-2, *Me*, *Mdh*, *Mdh^m*, *Lap*, *Pep* (Leu-Val), *Icd* e *Gpi*; em (b): α Gpdh-1, α Gpdh-2, *Me*, *Lap*, *Gpi*.

Considerando-se as pupas (São Carlos apenas), foram amostrados 15 locos enzimáticos, oito (53,3%) polimórficos (Tabela 9). A heterozigosidade intraloco variou de 0,013 (*Mdh*) a 0,425 (*Est-3*). A heterozigosidade média observada foi de 0,094 (±0,1364DP; n = 65), valor estatisticamente não diferente (teste t de espécime único comparado com amostra, SOKAL & ROHLF 1995, pg. 227-228, p = 0,75) do observado no restante de Hymenoptera (fontes dos dados citados anteriormente, pág. 22, §2).

Tabela 9. Frequências alélicas (F, S: mobilidade relativa) para cada loco polimórfico encontrado em *Trypoxylon rogenhoferi* (pupas). Os indivíduos foram amostrados em ninhos-armadilha presentes em São Carlos (Faz. Canchim, EMBRAPA). 'N' = número de indivíduos (pupas) amostrados; 'H_i' = proporção de heterozigotos observados em cada loco, 'P' = grau de polimorfismo pelo critério de 99%; 'H' = heterozigosidade média observada (contagem direta); 'A' = número médio de alelos por locos; 'DP' = desvio padrão. Apenas genótipos diplóides foram usados nos cálculos.

N	Locos	Alelos		H _i	P (99%)	H (±DP)	A (±DP)
		F	S				
					53,33%	0,094 (±0,1364)	1,533 (±0,5164)
37	<i>Est-3</i>	0,932	0,068	0,425			
80	<i>Est-2</i>	0,725	0,275	0,135			
62	<i>Est-4</i>	0,234	0,766	0,307			
80	<i>Mdh</i>	0,831	0,169	0,013			
80	<i>Pgm</i>	0,894	0,106	0,213			
51	<i>Icd-2</i>	0,755	0,245	0,059			
51	<i>6-Pgd</i>	0,588	0,412	0,039			
80	<i>Lap-2</i>	0,887	0,113	0,225			

Locus monomórficos: *Est-1*, *G6pd*, *Gpi*, *Icd-1*, *Lap-1* *Me*, *Pep*.

4.2.8.2. Estrutura populacional

Analisando-se os adultos, os estimadores da estatística-F indicam desvio da panmixia em *T. rogenhoferi* (Figura 19). Os estimadores F_{IT} e F_{ST} foram estatisticamente diferentes de zero (bootstrap sobre locos; $p < 0,05$ para ambos os estimadores), o que não aconteceu com F_{IS} (0,51; IC 95%, = - 0,05 a 0,67). O elevado valor de F_{IT} (0,64; IC 95% = 0,036 a 0,78), aparentemente, é devido à monopolização de ninhos por algumas fêmeas nos locais de nidificação e filopatria, mas não há evidência de isolamento entre as duas populações amostradas ($F_{ST} = 0,26$; IC 95% = 0,01 a 0,44). Considerando as populações separadamente, tem-se F_{IS} assumindo o valor de 0,30 em Luís Antônio (o que não difere estatisticamente de zero; IC95% - 0,07 a 0,62; $p > 0,05$) e 0,66 em São Carlos (estatisticamente diferente de zero; IC95% 0,50 a 0,73; $p < 0,05$).

Analisando as pupas, vemos que a filopatria e monopolização de ninhos tem importante papel na estruturação das populações de *Trypoxylon rogenhoferi*. Há desvio da panmixia ($F_{IT} = 0,43$, valor significativamente diferente de zero; IC_{95%} = 0,03 a 0,76) em decorrência, principalmente, do controle dos grupos de ninhos instalados no campo por algumas fêmeas ($F_{ST} = 0,19$, valor significativamente diferente de zero; IC_{95%} = 0,12 a 0,278). O valor do estimador F_{IS} (0,30, valor estatisticamente igual a zero; IC_{95%} = -0,15 a 0,70) indica que a diminuição da heterozigosidade individual não é devida a possíveis cruzamentos não-casualizados que possam ocorrer na área de nidificação (Figura 19).

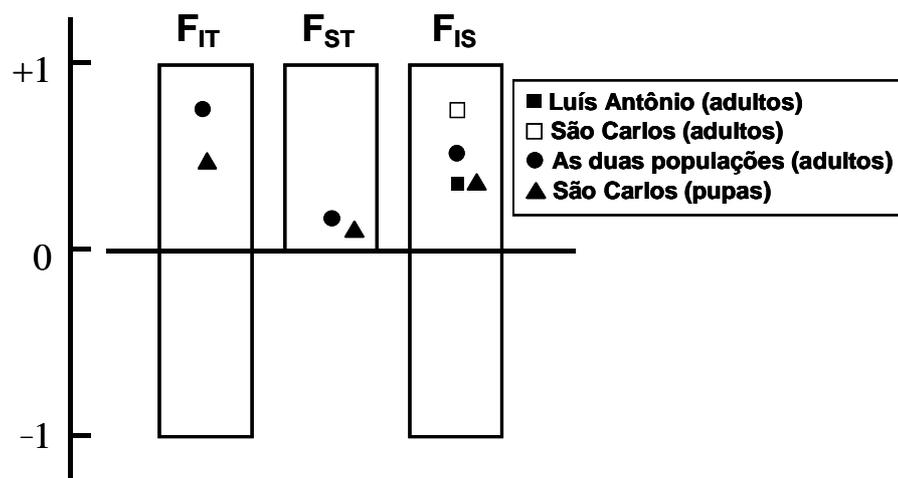


Figura 19. Três níveis da estatística-F obtidos do estudo eletroforético de alozimas de *Trypoxylon rogenhoferi*. O comprimento dos retângulos indica os valores possíveis dos três parâmetros da estatística (eixo y), os símbolos representam os valores estimados.

4.2.8.3. Parentesco intranidal

Não foi possível calcular o parentesco entre os adultos emergidos de ninhos coletados em São Carlos, isto porque, dois (*Est-1* e *Est-2*) dos três locos polimórficos encontrados neste estádio (Tabela 8) não estavam no equilíbrio de Hardy-Weinberg e não puderam ser utilizados nos cálculos de parentesco (QUELLER & GOODNIGHT 1989). O outro loco (*Pgm*) apresentou frequências alélicas muito desbalanceadas (F: 0,012 e S: 0,988), o que superestimaria os valores de parentesco (WILKINSON & McCracken 1985). Para os adultos amostrados em ninhos coletados em Luís Antônio, dos sete locos polimórficos encontrados (Tabela 8), apenas um (*Pep*) não estava no equilíbrio de Hardy-Weinberg. Nas pupas, dos oito locos polimórficos encontrados (Tabela 9), três (*Mdh*, *Icd-2* e *6-Pgdh*) não estavam no equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não foi observado nenhum caso de desequilíbrio de ligação entre os locos polimórficos analisados.

De maneira geral, a presença do guarda pode garantir a ele a paternidade da progênie feminina. Entretanto, para muitos dos ninhos analisados os valores de parentesco não puderam ser adequadamente distinguidos entre zero ou 0,75 (Tabela 10).

4.2.8.4. Associação entre fêmeas

Nas populações de *Trypoxylon rogenhoferi* analisadas geneticamente foi possível verificar que apenas em um ninho (em São Carlos) havia evidências de usurpação por outras fêmeas (Tabela 11). Na ausência de observação direta, podemos inferir que este ninho foi utilizado por, pelo menos, três fêmeas diferentes. A fêmea fundadora heterozigota (FM) acasalou-se com um macho M, produzindo a progênie feminina FM e masculina F (1ª a 3ª e 8ª células). Os genótipos SS (4ª e 6ª células) e FF (5ª célula) indicam que, pelo menos, outras duas fêmeas usurparam o ninho enquanto ele estava sendo provisionado.

A ‘herança’ do ninho (uso do ninho por uma segunda fêmea, após a primeira tê-lo abandonado) foi verificada pela presença de fenótipos incompatíveis em posições terminais do ninho (veja ninho CCH34; São Carlos; Tabela 11), ou pela presença de uma fêmea com fenótipo diferente do fenótipo da prole, em ninho já terminado, porém com poucas células (ninho EEJ21, Luís Antônio, Tabela 11).

Tabela 10. Parentesco médio entre as fêmeas de *Trypoxylon rogenhoferi* que emergiram de mesmo ninho. 'N' indica o número de fêmeas analisadas em cada ninho; 'R(±EP)' o grau de parentesco médio e seu erro padrão (Jackknife sobre ninhos); 'IC95%' intervalo de confiança de 95%. Em Luís Antônio foram analisados adultos e em São Carlos, pupas.

LUÍS ANTÔNIO				SÃO CARLOS			
NINHO	N	R(±EP)	IC95%	NINHO	N	R(±EP)	IC95%
eej10	8	0,23(±0,52)	-0,92 a 1,38	a1	8	1	
eej11	8	0,28(±0,64)	-1,13 a 1,69	a2	3	0,72(±0,4)	-0,12 a 1,54
eej12	3	1		a5	6	0,43(±0,39)	-0,39 a 1,25
eej14	2	1		b3	3	0,34(±0,54)	-0,79 a 1,47
eej15	4	0,87(±0,15)	0,54 a 1,20	c2	2	0,29(±0,62)	-1,00 a 1,59
eej16	2	1		c4	4	0,66(±0,23)	0,19 a 1,14
eej17	3	1		c6	2	0,82(±0,21)	0,38 a 1,26
eej19	6	0,57(±0,51)	-0,56 a 1,69	c7	2	0,6(±0,22)	0,14 a 1,06
eej21	6	0,34(±0,61)	-1,00 a 1,68	c8	2	1	
eej3	2	0,36(±0,75)	-1,29 a 2,01	f3	4	0,24(±0,27)	-0,33 a 0,81
eej61	2	0,28(±0,71)	-1,28 a 1,84	f4	3	0,54(±0,23)	0,06 a 1,02
eej71	2	0,66(±0,44)	-0,31 a 1,63	f5	3	0,41(±0,68)	-1,01 a 1,83
				g5	2	0,37(±0,38)	-0,43 a 1,17
				g6	2	1	
				g7	2	0,21(±0,77)	-1,40 a 1,82
				h2	4	0,22(±0,53)	-0,89 a 1,33
				i3	2	0,4(±0,79)	-1,25 a 2,05
				i4	7	1	
				j2	3	0,77(±0,25)	0,25 a 1,29
				j3	4	0,86(±0,15)	0,55 a 1,17

Tabela 11. Ninhos cujos resultados aloenzimáticos indicam associações de natureza diversa entre fêmeas de *Trypoxylon rogenhoferi*. Fenótipos haplóides são machos e diplóides fêmeas. A seqüência de oviposição é da esquerda para a direita. Entre parênteses o sistema enzimático em que a associação foi detectada.

Mais de uma fêmea realizando postura		
Ninho	Três alelos presentes em fêmeas homozigotas e machos	
CCH6*	MM, FF, S, MM	(Est-2)
CCH34	SS, FM, FM, FM, FM, F, F	(Est-1)
Usurpação de ninho		
F2	F, F, FM, SS, FF, SS, †, FM	(Est-1)
Fenótipo filial diferente do fenótipo materno - SS		
EEJ21	FF, F, F	(Est-1)

* fenótipos não posicionados de acordo com a seqüência de oviposição.

† não emergiu

4.3. Aranhas capturadas por *Trypoxylon rogenhoferi*

A coleta de ninhos de *T. rogenhoferi* para determinação do número e massa de aranhas coletadas pelas fêmeas fundadoras permitiu que as aranhas estocadas fossem amostradas e identificadas. O material identificado foi coletado em São Carlos (Faz. Canchim, EMBRAPA, área agrícola) e em Luís Antônio (Estação Ecológica Jatáí, área de Cerrado / Floresta semi-decídua).

O número de aranhas depositadas em cada célula de cria variou de duas a 23 ($7,9 \pm 4,0\text{DP}$; moda 5, $n = 274$). A massa variou de 195 a 652mg ($348,7\text{mg} \pm 72,9\text{DP}$; $n = 270$). O número de aranhas depositadas em cada célula de cria foi maior na população de Luís Antônio (duas a 23, média $10,1 \pm 4,5\text{DP}$; moda 7; $n = 95$) do que em São Carlos (duas a 19; média $6,5 \pm 2,7\text{DP}$; moda 5; $n = 178$) (Mann-Whitney, $Z = -6,67$; $p < 0,05$). Entretanto, as massas foram iguais (Luís Antônio: 194 a 502mg; média $340,8\text{mg} \pm 73,7\text{DP}$; $n = 95$; São Carlos: 205,0 a 652mg; média $351,9\text{mg} \pm 72,9\text{DP}$; $n = 177$; teste $t_{0,05(2)} = 1,20$; $p = 0,23$).

Ao todo, as aranhas capturadas representam três famílias. Araneidae foi a melhor representada e foi encontrada nos dois ambientes (Tabela 12). Em Luís Antônio, esta família representou 91,67% e em São Carlos 82,35% das espécies de aranhas capturadas por *T. rogenhoferi*. As outras famílias foram Corinnidae (Luís Antônio: 8,33%; São Carlos 0%) e Tetragnathidae (Luís Antônio: 0%, São Carlos: 17,65%). Araneidae, nos dois ambientes, também teve o maior número de indivíduos capturados (Luís Antônio: 99,85%; São Carlos 99,50%). A espécie predominante nos dois ambientes foi *Alpaida veniliae* (Figura 20) (Luís Antônio: 97,85%; São Carlos 78,87%; Berger-Parker, $D = 0,98$ e $0,79$, respectivamente). A diversidade foi maior em São Carlos (Shannon-Weaver, $H' = 0,91 \pm 0,57\text{DP}$) do que em Luís Antônio ($H' = 0,15 \pm 0,24\text{DP}$) ($t_{0,05(2), 2703} = 18,29$; $p < 0,0001$).

Ao todo foram capturados 1347 indivíduos em Luís Antônio e 1609 em São Carlos. Foram capturadas principalmente aranhas jovens (Luís Antônio: 68%; São Carlos: 70%). Fêmeas representaram 24% em Luís Antônio e 28% em São Carlos e machos 8% e 2% respectivamente (Figura 21).



Figura 20. Espécime fêmea de *Alpaida veniliae*, espécie mais abundante entre as presas de *Trypoxylon rogenhoferi* de São Carlos (área agrícola) e de Luís Antônio (reserva ecológica).

Tabela 12. Aranhas capturadas por *Trypoxylon rogenhoferi* em dois ambientes distintos. A diversidade foi maior (teste t; $p < 0,0001$) na Fazenda Canchim (Shannon-Weaver, $H' = 0,91 \pm 0,57DP$) do que na Estação Ecológica Jataí ($H' = 0,15 \pm 0,24DP$).

AMBIENTE	ARANHAS		Nº. DE INDIVÍDUOS
	FAMÍLIA / GÊNERO / ESPÉCIE		
Cerrado / Floresta Semi-decídua (EEJ)			
	Araneidae		
		<i>Alpaida aff. negro</i>	1
		<i>Alpaida bicornuta</i>	1
		<i>Alpaida veniliae</i>	1318
		<i>Araneus</i> sp.	1
		<i>Argiope</i> sp.	1
		<i>Eustala</i> sp. 1	9
		<i>Eustala</i> sp. 2	1
		<i>Larinia t-notata</i>	8
		<i>Larinia tucuman</i>	1
		<i>Metazygia lopez</i>	1
		<i>Ocrepeira hirsuta</i>	3
	Corinnidae		
		<i>Castianeira</i> sp.	2
Número de Indivíduos			1347
Número de Espécies			12
Área Agrícola (FC)			
	Araneidae		
		<i>Actinossoma pentacantha</i>	1
		<i>Alpaida aff. negro</i>	86
		<i>Alpaida aff. negro</i> (2)	2
		<i>Alpaida leucogramma</i>	19
		<i>Alpaida</i> sp.	19
		<i>Alpaida veniliae</i>	1269
		<i>Argiope</i> sp.	4
		<i>Larinia tucuman</i>	6
		<i>Larinia</i> sp.	3
		<i>Neoscona moreli</i>	3
		<i>Neoscona</i> sp.	15
		<i>Ocrepeira hirsuta</i>	133
		<i>Parawixia bistrriata</i>	20
		<i>Wagneriana ganensis</i>	21
	Tetragnathidae		
		<i>Chrysometa</i> sp. 1	1
		<i>Chrysometa</i> sp. 2	6
		<i>Leucauge</i> sp.	1
Número de Indivíduos			1609
Número de Espécies			17

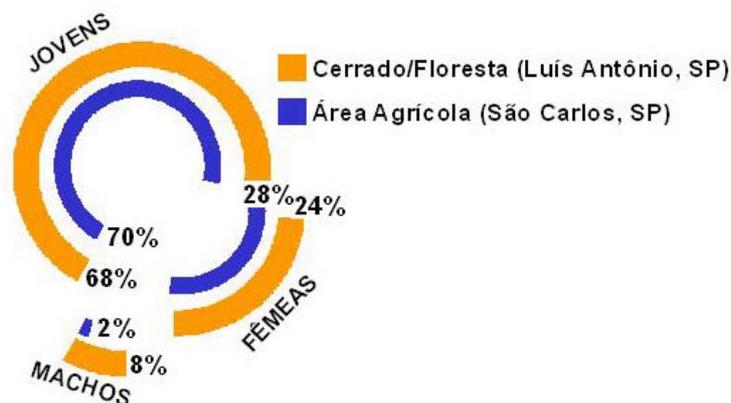


Figura 21. Dados demográficos das aranhas capturadas por *Trypoxylon rogenhoferi* em área de Cerrado / Floresta semi-decídua (1347 indivíduos capturados) e em área agrícola (1609 indivíduos capturados).

5. DISCUSSÃO

5.1. Razão sexual e investimento materno

Outros trabalhos realizados com espécies de *Trypoxylon* mostram que a razão sexual, neste gênero, é variável espacial e temporalmente, o que também foi observado neste estudo. Esta variação pode ser consequência de flutuações dos recursos disponíveis para as fêmeas nidificantes, as quais adotariam estratégias de alocação sexual condicional (em condições desfavoráveis os pais investiriam mais no sexo com a melhor relação custo/benefício; veja uma discussão maior em STROHM & LINSÉNMAIR 1997a).

A razão sexual em *T. albitarse* não diferiu de 1:1. Resultado semelhante foi encontrado por AMARANTE (1991a) em uma população desta vespa estudada por dois anos na cidade de São Paulo (SP). Produção igualitária dos sexos também foi observada em *T. antropovi* e *T. aestivale* (CAMILLO 1999), espécies também do grupo *albitarse*. Outra, *T. politum*, espécie norte-americana (CROSS et al. 1975), apresenta nas populações bivoltinas (Flórida, Mississippi) a geração pós-diapausa com maior número de machos e a geração com desenvolvimento direto maior número de fêmeas. Porém, nas populações univoltinas (Pennsylvania) pode ser produzido maior número de machos em um ano e no próximo, número igual de machos e fêmeas (BROCKMANN & GRAFEN 1992, MOLUMBY 1997). Desta maneira, a razão sexual nas espécies do grupo *Albitarse* e os possíveis desvios em direção a um ou outro sexo, parecem ser características próprias de cada população, cujas fêmeas estão sob a ação de fatores ambientais e respondem de acordo com sua história evolutiva. Questões desta natureza certamente necessitam de estudos aprofundados sobre a biologia de cada espécie considerada.

Em *Trypoxylon*, havendo predomínio ou exclusividade de diâmetros reduzidos para nidificação são produzidos mais machos (KROMBEIN 1967, COVILLE & COVILLE 1980). Nisto, *T. rogenhoferi* não é exceção (CAMILLO et al. 1993, 1994, GARCIA &

ADIS 1995). Por outro lado, os dados de São Carlos indicam que havendo diversidade de diâmetros, os ninhos com maior diâmetro são preferencialmente utilizados, possibilitando a produção de prole de ambos os sexos.

Em São Carlos, a produção de fêmeas é quase 50% maior que a de machos. Desvios neste sentido podem ser atribuídos a (i) competição local por acasalamento e/ou endocruzamentos (HAMILTON 1967, COWAN 1991) ou (ii) aumento local de recursos (SCHWARZ 1988, MARTINS et al. 1999). Aparentemente, (i) não se aplica a esta população, já que não há indícios de endogamia acentuada e, em *T. rogenhoferi* os machos deixam o ninho depois das fêmeas (R. C. Peruquetti obs. pes.), o que de certa maneira dificultaria o acasalamento entre irmãos. Ninhos de maior diâmetro, implicando em volumes maiores das células de cria, poderiam desempenhar algum papel na maior produção de fêmeas. Entretanto, a despeito dos ninhos instalados em São Carlos terem maior diâmetro médio do que os instalados em Luís Antônio, isso não acontece. O volume médio das células que produziram machos ou fêmeas na população de São Carlos não difere estatisticamente daqueles da população de Luís Antônio, onde o diâmetro do ninho influenciou a maior produção de machos (teste t; $p > 0,20$ para ambos os sexos; fêmeas, $gl = 184$; machos, $gl = 134$). O mesmo aconteceu quando consideramos o volume médio de todas as células amostradas em cada local (teste t; $p > 0,50$; $gl = 702$).

Desta forma, a hipótese sobre o aumento local de recursos (SCHWARZ 1988) pode ser uma explicação possível. A despeito da igualdade dos volumes das células de cria (índice que influencia o tamanho do adulto, veja abaixo), a população de São Carlos apresenta indivíduos dos dois sexos maiores dos que os da população de Luís Antônio (teste t; $p < 0,0001$ para ambos os sexos; fêmeas, $gl = 310$; machos, $gl = 259$). Já que em *Trypoxylon* o tamanho do adulto é função da quantidade de alimento ingerido pela larva e este é bom estimador do investimento materno (MOLUMBY 1997), o maior tamanho dos indivíduos da população de São Carlos poderia estar relacionado ao relaxamento de fatores que limitam a produção de prole de maior tamanho corporal. No caso, haveria farta disponibilidade de presas [em São Carlos, a diversidade de aranhas capturadas por *T. rogenhoferi* foi 2,34 vezes maior que a de Luís Antônio ($p < 0,0001$) (Tabela 11)] e a pressão de parasitismo seria baixa (em Luís Antônio a taxa de parasitismo é 10x maior que a de São Carlos; veja o item 4.3). Baixa pressão de parasitas permitiria que as células de cria permanecessem mais tempo abertas e pudessem ser melhores provisionadas pela fêmeas (BROCKMANN 1988). BROCKMANN & GRAFEN (1989) estudando populações de *T. politum* observaram que populações desta vespa com fêmeas maiores apresentavam machos também maiores. Estes autores também mostram que em células com menos de 500mg de alimento foram produzidos predominantemente machos. Este valor limite não foi determinado nas populações de *T. rogenhoferi* estudadas, mas é possível que ele esteja próximo a 210mg.

Ainda considerando-se *T. rogenhoferi*, os dados de investimento sexual reforçam os de razão sexual. Entretanto, de maneira geral, machos e fêmeas de Sphecidae são dimórficos com relação ao tamanho do corpo, sendo os machos menores do que as fêmeas (EVANS & WEST-EBERHARD 1970), o que pode gerar erros ao considerar-se o peso dos indivíduos na determinação de investimento sexual (HELMS 1994).

Adotando-se o volume das células de cria como índice de investimento maternal, na população de São Carlos a produção de uma filha custa 1,13 vezes a produção de um filho. Baseado nisto, o princípio de FISHER (1930) prediz uma razão sexual de 1,13 (ou 56,5%) machos para cada fêmea. A população estudada de São Carlos produziu 41,2% de machos, o que difere estatisticamente do esperado pelo princípio de Fisher (teste chi-quadrado de aderência; $\chi^2 = 9,18$; $p < 0,01$). Em Luís Antônio, o custo de uma filha foi 1,13 vezes o de um filho; neste caso, porém, a população está estatisticamente de acordo com o princípio de Fisher (teste chi-quadrado de aderência; $\chi^2 = 0,38$; $p = 0,56$). Infelizmente, não há dados de outros trabalhos com *T. rogenhoferi* para comparações. Nem é possível determinar a razão das diferenças observadas; talvez o que foi dito anteriormente sobre maior abundância de recursos e baixas taxas de parasitismo em São Carlos possa explicar algo do observado, mas com base apenas neste estudo é difícil qualquer conclusão.

A população estudada de *T. albitarse* seguiu o padrão geral esperado. Células que produziram fêmeas foram 1,18 vezes maiores do que aquelas que produziram machos. Isto representaria uma produção de 59% de machos nesta população, o que não difere do observado (52%) (teste chi-quadrado de aderência; $\chi^2 = 0,004$; $p = 0,95$). Entretanto, em uma outra espécie deste grupo, BROCKMANN & GRAFEN (1992) concluíram que o investimento materno, diferentemente do predito pelo modelo de Fisher, é maior em machos.

De qualquer modo, ponderar investimento materno com apenas uma variável é, no mínimo, subestimá-lo. Vários aspectos da existência da fêmea, como risco de predação, dificuldade em encontrar locais para nidificação e presas e risco de acasalamento, estão em jogo no momento da produção de uma progênie (MOLUMBY 1997). Certamente, estudos futuros em *Trypoxylon* poderão permitir testar hipóteses ou modelos sobre investimento sexual em Hymenoptera.

5.2. Tamanho do corpo e valor adaptativo

Dimorfismo sexual para tamanho do corpo é comum em *Trypoxylon*, sendo as fêmeas maiores do que os machos (SAKAGAMI et al. 1990, BROCKMANN 1992, GARCIA & ADIS 1995, MOLUMBY 1997, CAMILLO 1999, CAMILLO & BRESCOVIT 1999a, CAMILLO 1999) e pode ser produto de investimento adaptativo por parte da fêmea fundadora (MOLUMBY 1997). As populações estudadas de *T. rogenhoferi*

adequaram-se a todos os preceitos dos modelos de GREEN (1982) e BROCKMANN & GRAFEN (1992). O peso da aranhas estocadas seguiu distribuição normal, assim a quantidade de provisão disponível para um indivíduo qualquer pode ser vista como variável contínua aleatória. A fêmea de *T. rogenhoferi* oviposita na última aranha depositada em cada célula de cria, assim ela pode teoricamente escolher o sexo de sua prole (fertilizando ou não o ovo) de acordo com a disponibilidade de provisão. Para machos e fêmeas, o tamanho do corpo foi função da quantidade de alimento recebido pela larva, e a progênie feminina se beneficiaria mais da maior quantidade de provisão recebida do que a progênie masculina.

Estas evidências sugerem que a progênie feminina tem ampla vantagem em ser grande. Fêmeas maiores coletaram maior massa de aranhas por dia, as aranhas coletadas por elas eram maiores e elas completaram maior número de células de cria por dia do que fêmeas menores. Apesar de serem necessários outros dados, as observações feitas indicam que a fecundidade das fêmeas estudadas pode ser geometricamente distribuída, com poucas fêmeas produzindo a maior parte da prole viável de uma área. Nesta situação, ser grande é ter maior vantagem adaptativa. Esta vantagem pode ser consequência apenas do aumento da taxa de forrageamento. Fêmeas grandes seriam capazes de caçar mais rápido aranhas grandes, mais rapidamente completando suas células de cria, do que fêmeas pequenas. Do ponto de vista da seleção para tamanho do corpo, larvas fêmeas que receberam maior provisão seriam selecionadas favoravelmente em relação às que receberam menos provisão.

Não foram coletados dados na população de *T. albitarse* para estas comparações, mas aumento do valor adaptativo das fêmeas associado ao aumento do tamanho do corpo já foi reportado em outras vespas e abelhas com aprovisionamento massal e, em todas, maior tamanho de corpo resulta em taxas diferenciadas de forrageamento, caça, aprovisionamento e construção de células de cria (ALCOCK 1979, COWAN 1991, MOLUMBY 1997, STROHM & LINSENMAIR 1997b, 2000).

Não há evidência de seleção para tamanho do corpo agindo sobre os machos das populações estudadas. Mas, como apenas o acesso aos ninhos foi adotado como indicativo de sucesso reprodutivo, esta evidência pode ser falha. Em espécies cujos machos lutam ou defendem territórios para ter acesso a companheiras, machos com tamanhos diferenciados podem ter grande vantagem adaptativa (ALCOCK 1991, COWAN 1991, COELHO & HOLLIDAY 2001). Entretanto, em *Trypoxylon*, não há evidências de qualquer um destes comportamentos e também não foram observadas diferenças de tamanho de corpo entre machos residentes e patrulheiros de *T. politum* (BROCKMANN 1992, MOLUMBY 1997), ou do esfecídeo *Philanthus triangulus* (STROHM & LECHNER 2000).

5.3. Volume da célula de cria e sexo da prole

No caso de *T. rogenhoferi*, o resultado deste estudo concorda com as observações feitas em outros himenópteros com aprovisionamento massal: a progênie feminina recebe mais provisão (caracterizada pelo maior volume da célula de cria) do que a progênie masculina (BROCKMANN & GRAFEN 1989, COWAN 1991, GARCIA & ADIS 1995, MOLUMBY 1997). Entretanto, como ocorre em *T. politum* (MOLUMBY 1997), a alocação de recursos para os dois sexos não é fixa internidalmente (ao contrário do que acontece intranidalmente; teste F; $p < 0,05$ para ambos os sexos em todos os testes), o que pode gerar variações no tamanho do corpo entre os adultos de uma área. Isto seria consequência da adoção pelas fêmeas nidificantes de estratégias adaptativas diferenciadas de aprovisionamento, o que é interessante em um contexto evolutivo, já que o comportamento de aprovisionamento da mãe pode ser em algum grau transmitido à filha (MOLUMBY 1997).

Fêmeas grandes produzem filhas grandes, mas não necessariamente filhos grandes. Esta relação entre o tamanho da mãe e o tamanho da filha indica que fêmeas grandes têm realmente maior valor adaptativo. A produção de filhas grandes garante o sucesso reprodutivo da fêmea, já que suas filhas têm potencial para garantir nas gerações futuras a representatividade de seus genes. Observações semelhantes foram feitas nas vespas *Sceliphron assimile* (FREEMAN 1981), *T. politum* (MOLUMBY 1997) e *Philantus triangulum* (STROHM & LINSENMAIR 1997b) e na abelha *Xylocopa sulcatipes* (STARK 1992). MOLUMBY (1997) sugere que em *T. politum* o tamanho do corpo seja, mesmo que parcialmente, uma característica maternalmente herdada. Larvas femininas que recebem muito alimento se desenvolvem em fêmeas grandes, que por sua vez, fornecerão maior quantidade de alimento à sua progênie feminina. Este tipo de herança materna, em que apenas as fêmeas são beneficiadas, tem propriedades muito distintas da herança genética simples (KIRKPATRICK & LANDE 1989) e pode ser responsável pela produção de variação necessária à ação da seleção natural (MOUSSEAU & FOX 1998). Nossos dados indicam que mecanismos semelhantes podem atuar nas populações de *T. rogenhoferi*.

É possível que estas observações também possam ser estendidas para *T. albitarse*. Apesar de termos verificado que o volume da célula de cria de machos e fêmeas não é diferente entre si, este resultado difere do encontrado por AMARANTE (1991a) e também do observado em outras espécies do grupo *albitarse*, onde células de fêmeas apresentam maior volume, recebem maior massa de aranhas e produzem indivíduos maiores (BROCKMANN & GRAFEN 1992, MOLUMBY 1997, CAMILLO 1999). Em nossos dados há uma contradição a este respeito, já que as fêmeas foram maiores do que os machos, mas, em termos estatísticos, produzidas em células de volume igual a eles. Provavelmente, este resultado reflete o pequeno número de células cujo volume foi determinado (13 de fêmeas e 23 de machos).

5.4. A guarda do ninho

O comportamento de guarda de ninhos ativos por machos é restrito a alguns representantes de Sphecidae (BROCKMANN 1996) e provavelmente é derivado do hábito territorial do macho (ALCOCK et al. 1978, BROCKMANN & GRAFEN 1989).

BROCKMANN & GRAFEN (1989) mostraram que fêmeas de *T. politum* assistidas por guardas levam menos tempo para aprovisionarem suas células de cria, isso porque elas ficam menos tempo no ninho e mais tempo caçando. Entretanto, estes autores verificaram que a presença do guarda não influenciou o sexo, nem alterou o peso da prole feminina, mas os machos produzidos com a presença do guarda foram mais pesados do que aqueles produzidos sem o guarda. Por outro lado, ninhos com guardas são menos parasitados, já que são completados mais rapidamente, permanecendo pouco tempo expostos aos parasitas e potencialmente poderiam produzir maior número de fêmeas. MOLUMBY (1997) sugere que dimorfismo sexual poderia facilitar a guarda do ninho pelo macho de *Trypargilum*, já que neste subgênero as fêmeas são maiores do que os machos (veja item 5.2). Dessa forma, o macho ‘ajudaria’ sua parceira a aprovisionar melhor as células de cria para que prole feminina (vigorosa) fosse produzida, já que ele se beneficiaria deste comportamento apenas sendo pai da progênie feminina e se estas fêmeas tiverem potencial reprodutivo efetivo. Apesar da hipótese de MOLUMBY (1997) parecer contraditória ao apresentado por BROCKMANN & GRAFEN (1989), ela não é. Já que estes últimos autores relatam que há grande variação no tamanho do corpo destas vespas considerando-se populações distintas ou mesmo períodos de amostragem distintos, em decorrência, possivelmente, da disponibilidade de presas.

Muitas das estimativas de parentesco apresentadas para *T. albitarse* e *T. rogenhoferi* têm grandes erros padrões e assim não diferem de zero ou 75%. Três processos podem reduzir o parentesco entre as fêmeas nascidas em um mesmo ninho: (i) trocas de ninhos entre fêmeas, (ii) mais de uma fêmea ovipositando em um mesmo ninho e (iii) acasalamentos múltiplos. Devido à magnitude dos erros padrões, é impossível saber qual destes três processos poderia estar acontecendo nestas duas espécies de *Trypoxylon* estudadas. Contudo, o acompanhamento de alguns ninhos de *T. rogenhoferi* na população de São Carlos indica que as associações entre machos e fêmeas duram por todo o processo de nidificação e, nesta população, a ocorrência de cópulas extra-par foi pequena ou inexistente (mas frequente em Luís Antônio), em decorrência, basicamente, da baixa densidade populacional na área de nidificação. Observação semelhante foi feita por AMARANTE (1991a) e GARCIA & ADIS (1995) e nestes casos, a paternidade do guarda poderia ser garantida e acasalamentos múltiplos não devem ter influenciado as estimativas de parentesco. Infelizmente, análises diretas da associação de fenótipos enzimáticos dos supostos pais e filhas não foi realizado neste estudo e o mais provável é terem ocorrido trocas e usurpações de ninhos não detectadas nas análises.

Muitas suposições sobre a garantia de paternidade em *Trypargilum* baseiam-se nas repetidas cópulas que o guarda tem com sua parceira. Em muitos casos estudados, a monopolização da fêmea e/ou cópulas repetidas asseguram ao macho a paternidade (ALCOCK 1991, 1994, ALLEN et al. 1994, HUNTER et al. 1993, LEWIS & JUTKIEWICZ 1998, MÜLLER & EGGERT 1989, REID & ROITBERG 1994, BONDURIANSKY 2001). Talvez o uso de outro tipo de marcador genético ou uma outra abordagem ainda utilizando-se alozimas (como a associação de genótipos mencionada), possa resolver melhor esta questão da paternidade nas espécies de *Trypargilum*. Além disso, é necessário estimar de maneira precisa o real ganho que o macho de *Trypargilum* tem ao monopolizar uma única fêmea durante todo período de construção e aprovisionamento do ninho. Neste tipo de estudo é necessário levar em conta não apenas o processo de nidificação, mas também as variáveis ambientais (pressão de parasitas, quantidade e qualidade dos locais de nidificação, densidade populacional, quantidade e qualidade das presas, entre outras), que podem influenciar a decisão da fêmea em desviar a razão sexual de sua prole em favor de um ou outro sexo.

5.5. Variabilidade genética e estrutura populacional

A variabilidade genética encontrada em *Trypoxylon* ($\bar{H} = 0,077 \pm 0,025SD$; $n = 2$; não incluindo *T. albitarse*) não difere do encontrado no restante de Hymenoptera ($\bar{H} = 0,051 \pm 0,049$) (Mann-Whitney, $Z = 1,63$; $p = 0,10$; veja na pág. 22, 2§ as fontes utilizadas na comparação). De maneira geral, a ordem Hymenoptera apresenta baixa variabilidade genética comparada com outros insetos (GRAUR 1985, CRESPI 1991), porém alguns sistemas enzimáticos são bastante polimórficos (PACKER & OWEN 1992). Desta forma, o alto valor de heterozigiosidade encontrado em *T. albitarse* deve-se, provavelmente, ao pequeno número (oito) e escolha não aleatória dos sistemas enzimáticos amostrados.

O uso de pupas para as análises enzimáticas contribuiu para o aumento do número de sistemas polimórficos amostrados (adultos de *T. rogenhoferi*: 13 locos analisados, quatro polimórficos; $H_{ob} = 0,056 \pm 0,0785 DP$; $n = 269$; pupas: 15 locos analisados, oito polimórficos; $H_{ob} = 0,094 \pm 0,1364 DP$; $n = 65$), isto porque analisando-se pupas é possível visualizar sistemas enzimáticos que tem baixa ou nenhuma expressão nos adultos, principalmente aqueles dependentes de NADP⁺ (CANDY & KILBY 1975, HOY 1994). Como há facilidade na amostragem de ninhos de *Trypoxylon* e sexagem dos indivíduos como pupa, esta etapa do desenvolvimento deve ser preferida para a condução de análises genéticas baseadas em enzimas nestas vespas.

Comparando-se as Tabelas 8 e 9, percebemos que alguns sistemas (*Pgm*, por exemplo), na população de *T. rogenhoferi* amostrada em São Carlos, mudaram completamente de frequência. A razão disso, relaciona-se, provavelmente, com o tempo de colonização da área de nidificação pelas vespas, sendo consequência do método de amostragem adotada. A população amostrada em São Carlos concentrou-se no local de nidificação a partir de maio de 1999, data da instalação dos ninhos-armadilha. As primeiras análises genéticas iniciaram-se um ano depois (Tabela 8). Em Julho de 2001, iniciaram-se novas análises desta população (Tabela 9), nesta época a população já estava bem estabelecida e com maior número de indivíduos. Mudanças nas frequências alélicas ao longo do tempo são esperadas quando um pequeno número de indivíduos coloniza uma área e, com o passar do tempo, há migração, com novos indivíduos chegando ao grupo e aumento populacional (SUGG et al. 1996, AMOS & HARWOOD 1998).

Os resultados sobre a estruturação das populações de *T. rogenhoferi* e *T. albitarse* indicam que as populações destas vespas apresentam-se subdivididas em decorrência, possivelmente, de seu hábito filopátrico, o que é comum em muitos himenópteros (YANEGA 1990, MOLUMBY 1997, MELO 2000). Porém, a filopatria poderia ser diferenciada entre os sexos. As fêmeas permaneceriam nos locais de emergência (onde nidificariam) e os machos ficariam nestes locais por um período variável de tempo. MOLUMBY (1997) relata que machos marcados de *T. politum* puderam ser observados a 30Km da área de sua liberação. Este autor sugere que a saída dos machos da área de nascimento poderia ser determinada pela pressão de outros machos existentes no local e falta de oportunidades para obtenção de acasalamento. Este comportamento do macho tornaria menos provável o cruzamento entre irmãos e irmãs, neste estudo, evidenciado pela não significância do estimador F_{IS} e ao não encontro de machos com genótipos diplóides (heterozigotos). Em *T. rogenhoferi*, além da filopatria há indicação de fecundidade muito diferenciada entre as fêmeas que ocupam as áreas de nidificação (Figura 18), o que contribui na redução da heterozigosidade da população e sua estruturação (SUGG et al. 1996). Capacidade reprodutiva diferenciada entre fêmeas também é encontrada em *T. politum* (MOLUMBY 1997) e possivelmente ocorre também em *T. albitarse*.

5.6. Aranhas capturadas por *Trypoxylon rogenhoferi*

O gênero *Trypoxylon* abastece seus ninhos exclusivamente com aranhas. As aranhas capturadas (algumas vezes mais de 100 indivíduos por ninho), representam a fauna local utilizada pelas fêmeas de *Trypoxylon* e, certamente, podem fornecer informações sobre as preferências das vespas por suas presas e possíveis estratégias adotadas por elas para a caça (KROMBEIN 1967, CAMILLO et al. 1994, CAMILLO & BRECOVIT 1999a). Outro aspecto refere-se aos diferentes táxons de aranhas capturados por estas vespas.

Elas coletam suas presas em locais de difícil acesso ao homem e muitas vezes capturam espécies ou gêneros desconhecidos da ciência (CAMILLO & BRESOVIT 1999a).

Em valores absolutos, o número de aranhas depositadas em cada célula de cria encontrado neste estudo (duas a 23) foi semelhante ao relatado por CAMILLO et al. (1994) (duas a 26; $15,22 \pm 5,8DP$, $n = 32$) e CAMILLO & BRESOVIT (1999a) (três a 24; $10,5 \pm 4,4DP$, $n = 149$) para populações de *T. rogenhoferi* de Cajuru (SP) e por GARCIA & ADIS (1995) (três a 17; $8,1 \pm 2,7DP$, $n = 127$) para uma população da Ilha de Marchantaria (AM). Considerando-se valores médios, a população de São Carlos tem, em relação aos estudos citados e à população de Luís Antônio ($10,1 \pm 4,5DP$, $n = 95$), o menor número de aranhas depositadas por célula de cria ($6,5 \pm 2,7DP$, $n = 178$) (teste t para diferenças entre média populacional e média hipotetizada; $p < 0,05$ para todas as comparações). Para a população de Luís Antônio, este número é semelhante ao encontrado por CAMILLO & BRESOVIT (1999a), mas maior ($p < 0,05$) do que o encontrado por GARCIA & ADIS (1995). Foi encontrada também grande variação em relação à massa de aranhas depositada nas células de cria. Na população de São Carlos e Luís Antônio, os valores foram semelhantes ($p > 0,05$; respectivamente $340,8mg \pm 73,8DP$, $n = 95$; $351,9mg \pm 72,9DP$, $n = 177$), mas maiores ($p < 0,05$) do que a encontrada por CAMILLO et al. (1994) ($278,20mg \pm 54,6DP$, $n = 24$). No estudo de CAMILLO & BRESOVIT (1999a) a massa média de aranhas estocadas nas células de cria de *T. rogenhoferi* foi $340,4mg (\pm 75,8DP)$, $n = 149$, valor semelhante ao encontrado na população de Luís Antônio ($p > 0,05$), mas (marginalmente) menor do que o encontrado na população de São Carlos ($p = 0,04$). GARCIA & ADIS (1995) não apresentam dados gerais sobre a massa de aranhas, mas mostram que células que produzem fêmeas recebem mais aranhas ($375,4mg \pm 88,1DP$, $n = 21$) do que células que produzem machos ($304,3mg \pm 55,1DP$, $n = 22$). Estes valores são compatíveis com os apresentados neste estudo.

Esta variabilidade com relação à massa e número de presas de *T. rogenhoferi* [uma pequena revisão para o gênero é apresentada em CAMILLO & BRESOVIT (1999a)] indica que as fêmeas dessas vespas adotam estratégias diferenciadas na captura de suas presas de acordo com a abundância e distribuição delas no local de caça. Esta flexibilidade no provisionamento dos ninhos pode assegurar parte do sucesso reprodutivo da fêmea. Na população de São Carlos, as fêmeas deixam o ninho, em média, 40% menos (na captura de aranhas) do que as fêmeas da população de Luís Antônio, apesar das massas médias de aranha por célula serem iguais nas duas populações. Este resultado, associado com o que foi dito sobre alocação e razão sexual nestas duas populações (dados no item 4.2.2 e discussão em 5.1) indica que estudos sobre estas questões empregando-se populações de *T. rogenhoferi* com parâmetros distintos de disponibilidade de presas e conseqüente gasto energético e, havendo controle do diâmetro dos ninhos-armadilha utilizados, presença ou ausência do guarda e pressão de parasitas e doenças, podem mostrar resultados interessantes

sobre as decisões tomadas pela fêmea no momento da escolha do sexo da prole. Aparentemente, a disponibilidade (abundância e riqueza) e qualidade (tamanho) das presas em São Carlos influenciou o tamanho corporal de machos e fêmeas daquela população, os quais foram maiores do que os da população de Luís Antônio.

Outro aspecto do comportamento de caça das fêmeas de *T. rogenhoferi* é que elas podem ser extremamente especialistas, aprovisionando seus ninhos com uma única espécie de aranha (GARCIA & ADIS 1995) ou podem apresentar variações bastante grandes com relação à preferência por suas presas em biomas próximos (CAMILLO et al. 1994, CAMILLO & BRESCOVIT 1999a). Comparando-se os dados dos estudos envolvendo aranhas capturadas por *T. rogenhoferi* é possível perceber como o comportamento de caça destas vespas pode ser variável (Tabela 13). Na população de São Carlos, a diversidade de aranhas capturadas pelas fêmeas de *T. rogenhoferi* foi muito maior do que na população de Luís Antônio, diferença que pode ser reflexo da diversidade de ambientes que potencialmente são explorados pelas fêmeas nas duas áreas. Mesmo assim, há nas duas áreas predomínio de aranhas do gênero *Alpaida*, o que tem sido observado em outros trabalhos feitos com *T. rogenhoferi* (CAMILLO et al. 1994, GARCIA & ADIS 1995, CAMILLO & BRESCOVIT 1999a) e torna alguns ambientes explorados por *T. rogenhoferi* relativamente parecidos entre si. Veja os valores do índice de Morisita-Horn na tabela 13. Este índice quantitativo varia de zero (máxima desigualdade) a um (máxima igualdade) e é influenciado pela abundância relativa das espécies que compõem a amostra (MAGURRAN 1988). Na comparação Estação Ecológica Jataí vs. Ilha de Marchantaria, o valor do índice de similaridade de Morisita-Horn igual a um é consequência do grande número de espécimens de *Alpaida veniliae* nas duas amostras. No caso particular da Ilha de Marchantaria, esta foi a única espécie capturada.

Tabela 13. Comparações entre diversidade (H' , Shannon-Weaver), dominância (D, Berger-Parker) e similaridade (C_{M-H} , Morisita-Horn) entre diferentes locais de amostragem de aranhas capturadas por *Trypoxylon rogenhoferi*. EEJ: Estação Ecológica Jataí, Luís Antônio (SP); FC: Fazenda Cachim, São Carlos (SP); FSC: Fazenda Santa Carlota, Cajuru (SP); RP: Campus da USP/RP, Ribeirão Preto (SP); IM: Ilha de Marchantaria, Manaus (AM). FSC e RP, dados de CAMILLO & BRESCOVIT (1999); IM, GARCIA & ADIS (1995). Todos os valores são estatisticamente distintos entre si, teste t, $p < 0,0001$ para todas as combinações.

ÍNDICES	POPULAÇÃO			
	EEJ	FC	FSC	RP
H' (var H')	0,15(0,00053)	0,91(0,00122)	1,61(0,00141)	1,29(0,00344)
D	0,98	0,79	0,39	0,65
POPULAÇÃO	SIMILARIDADE (C_{M-H})			
EEJ	1,00			
FC	0,97	1,00		
FSC	0,62	0,76	1,00	
RP	0,90	0,95	0,79	1,00
IM	1,00	0,98	0,61	0,90

A maior presença de jovens e fêmeas entre as presas de *T. rogenhoferi*, em ambas populações estudadas, é semelhante ao relatado para outras espécies do gênero (revisão em CAMILLO & BRESCOVIT 1999a, VOLKOVA et al. 1999, COVILLE et al. 2000). REHNBERG (1987) sugere que aranhas fêmeas seriam preferidas em relação aos machos por suas qualidades como alimento. Este autor relata que as aranhas fêmeas têm relativamente abdômens maiores e proporcionalmente cefalotórax menos proeminente e em algumas espécies os machos são dotados de espinhos que poderiam dificultar seu empacotamento nas células de cria. O grande número de jovens capturados provavelmente relaciona-se ao hábito que aranhas jovens têm de permanecerem concentradas próximas aos locais onde emergiram (JONES 1983) o que deve facilitar seu encontro pelas vespas fêmeas. Esta mesma preferência também foi observada em outras espécies de *Trypoxylon* (REHNBERG 1987, CAMILLO & BRESCOVIT 1999b, COVILLE et al. 2000).

A diversidade e demografia das espécies de aranhas capturadas por fêmeas de *Trypoxylon*, sendo dependente de sua disponibilidade local, indicam grande flexibilidade no comportamento de caça destas vespas, o que contribui para sua predominância em muitos ambientes (GATHMANN et al. 1993, ASSIS & CAMILLO 1997).

6. CONCLUSÕES

As duas espécies solitárias de *Trypoxylon* (*Trypargilum*) estudadas, *T. albitarse* e *T. rogenhoferi*, apresentam populações estruturadas provavelmente em função da filopatria e fecundidade diferenciada entre as fêmeas presentes em uma área de nidificação. Fêmeas grandes fundam mais ninhos e potencialmente podem produzir mais prole do que fêmeas pequenas. Ao mesmo tempo, fêmeas grandes produzem filhas grandes e, desta forma, o genótipo dessas fêmeas é muito mais representado em gerações futuras do que o genótipo de fêmeas pequenas. Estes fatos somados estão de acordo com modelos propostos sobre alocação sexual ótima em Hymenoptera e sugerem que as estratégias adotadas por fêmeas de diferentes grupos desses insetos podem ser comuns a todas elas.

Nas duas espécies estudadas de *Trypoxylon*, a paternidade do macho que permanece como guarda durante a construção e aprovisionamento do ninho pôde ser confirmada em alguns casos, mas não em outros. Esta ambigüidade nos resultados pode ter diversas causas como acasalamentos múltiplos por algumas fêmeas, trocas de ninhos e mais de uma fêmea ovipositando em um mesmo ninho, as quais não foram adequadamente detectadas empregando-se eletroforese de enzimas. Observações nos locais de nidificação indicaram que em condições de baixa densidade populacional e disponibilidade satisfatória de locais de nidificação, a freqüência dos acontecimentos mencionados pode ser muito baixa e a paternidade do guarda provavelmente seria garantida por mecanismos relacionados a cópulas múltiplas entre os parceiros durante o período de nidificação e relacionaria-se aos efeitos do fenômeno de precedência espermática. Talvez a adoção de outra abordagem na determinação de paternidade nestas vespas seja a melhor solução para esta questão.

7. REFERÊNCIAS

- ALCOCK, J. 1975. Social interactions in the solitary wasp, *Cerceris simplex* (Hymenoptera: Sphecidae). **Behaviour** **54**: 142-152.
- ALCOCK, J. 1979. The relation between female body size and provisioning behavior in the bee *Centris pallida* Fox (Hymenoptera: Anthophoridae). **J. Kans. Entomol. Soc.** **52**: 623-632.
- ALCOCK, J. 1991. Adaptive mate guarding by males of *Ontholestes cingulatus* (Coleoptera: Staphylinidae). **J. Insect Behav.** **4**: 763-771.
- ALCOCK, J. 1994. Postinsemination associations between males and females in insects: The mate-guarding hypothesis. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** **39**:1-21.
- ALCOCK, J., E.M. BARROWS, G. GORDH, L.J. HUBBARD, L. KIRKENDALL, D.W. PYLE, T.L. PONDER, & F.G. ZALOM. 1978. The ecology and evolution of male reproductive behaviour in the bees and wasps. **Zool. J. Linn. Soc.** **64**:293-326.
- ALEXANDER, B.A. 1992. An exploratory analysis of cladistic relationship within the superfamily Apoidea, with special reference to sphecid wasps (Hymenoptera). **J. Hym. Res.** **1**:25-61.
- ALEXANDER, R.D. & P.W. SHERMAN. 1977. Local mate competition and parental investment in social insects. **Science** **196**: 494-500.
- ALLEN, G.R., D.J. KAZMER, & R.F. LUCK. 1994. Post-copulatory male behaviour, sperm precedence and multiple mating in a solitary parasitoid wasp. **Anim. Behav.** **48**:635-644.
- AMARANTE, S.T.P. 1991a. **Biologia e comportamento reprodutivo de *Trypoxylon (Trypargilum) albitarse* F. (Hymenoptera: Sphecidae)**. Tese de Mestrado. USP/SP
- AMARANTE, S.T.P. 1991b. Three new Neotropical species of *Trypoxylon (Trypargilum)* (Hymenoptera, Sphecidae). **Rev. Bras. Entomol.** **35**:429-437.
- AMARANTE, S.T.P. 1995. *Trypoxylon (Trypoxylon) mojuba* sp. n., an unusual Trypoxylini from South America (Hymenoptera, Sphecidae). **Rev. Bras. Entomol.** **39**:157-160.
- AMOS, W. & J. HARWOOD. 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B** **353**: 177-186.
- ANTROPOV, A.V. 1990. Another nest-guarding male of *Pison*. **Sphecos** **20**: 20.

- ARAÚJO, S.M.S.R., S.G. POMPOLO, J.A.S. DERGAM, & L.A.O. CAMPOS. 2000. The B chromosome system of *Trypoxylon (Trypargilum) albitarse* (Hymenoptera, Sphecidae) 1. Banding analysis. **Cytobios** **101**: 7-13.
- ARAÚJO, S.M.S.R., C.C. SILVA, S.G. POMPOLO, F. PERFECTTI & J.P.M. CAMACHO. 2002. Genetic load caused by variation in the amount of rDNA in a wasp. **Chromosome Research** **10**: 607-613.
- ASSIS, J.M.F. & E. CAMILLO. 1997. Diversidade, sazonalidade e aspectos biológicos de vespas solitárias (Hymenoptera: Sphecidae: Vespidae) em ninhos armadilhas na região de Ituiutaba, MG. **An. Soc. Entomol. Brasil** **26**: 335-347.
- BANKS, D. 1995. Male defense in the digger wasp *Cerceris binodis* (Hymenoptera: Sphecidae). **J. Hym. Res.** **4**: 77-79.
- BERKELHAMER, R.C. 1983. Intraspecific genetic variation and haplodiploidy, eusociality, and polygyny in the Hymenoptera. **Evolution** **37**:540-545.
- BOATO A. & A. BATTISTI. 1996. High genetic variability despite haplodiploidy in primitive sawflies of the genus *Cephalcia* (Hymenoptera, Pamphiliidae). **Experientiae** **52**: 516-521.
- BOHART, R.M. & A.S. MENKE. 1976. **Sphecide wasps of the world - a generic revision**. Berkeley, University of California Press.
- BONDURIANSKY, R. 2001. The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence. **Biol. Rev.** **76**: 305-359.
- BOURKE, A.F.G. 1997. Hymenopteran sex allocation. **Trends Ecol. Evol.** **12**: 488.
- BROCKMANN, H.J. 1988. Father of the brood. **Nat. Hist.** **97**:32-37.
- BROCKMANN, H.J. 1992. Male behavior, coustship and nesting in *Trypoxylon (Trypargilum) monteverdeae* (Hymenoptera: Sphecidae). **J. Kans. Entomol. Soc.** **65**: 66-84.
- BROCKMANN, H.J. 1996. Cooperative breeding in wasps and vertebrates: the role of ecological constraints. In: **The evolution of social behavior in insects and arachinids**. Choe, J.C. & Crespi, B.J. (Eds.). Cambridge Univ. Press. London. pgs. 347-371.
- BROCKMANN, H.J. & A. GRAFEN. 1989. Mate conflict and male behaviour in a solitary wasp, *Trypoxylon (Tripargilum) politum* (Hymenoptera: Sphecidae). **Anim. Behav.** **37**: 232-255.
- BROCKMANN, H.J. & A. GRAFEN. 1992. Sex ratios and life-history patterns of a solitary wasp, *Trypoxylon (Tripargilum) politum* (Hymenoptera: Sphecidae). **Behav. Ecol. Sociobiol.** **30**: 7-27.
- CAMILLO, E. 1999. Bionomics of *Trypoxylon (Trypargilum) antropovi* and *Trypoxylon (Trypoxilum) aestivale* (Hymenoptera, Sphecidae). **Iheringia** **87**: 29-36.
- CAMILLO, E., C.A. GARÓFALO, G. MUCCILLO & J.C. SERRANO. 1993. Biological observation on *Trypoxylon (Trypargilum) lactitarse* Saussure in Southeastern Brazil (Hymenoptera, Sphecidae). **Rev. Bras. Entomol.** **37**: 769-778.
- CAMILLO, E., C.A. GARÓFALO, & J.C. SERRANO. 1994. Observações sobre a biologia de *Trypoxylon (Trypargilum) rogenhoferi* Kohl (Hymenoptera: Sphecidae). **An. Soc. Entomol. Brasil** **23**: 299-310.
- CAMILLO, E., C.A. GARÓFALO, J.C. SERRANO & G. MUCCILLO. 1995. Diversidade e abundância sazonal de abelhas e vespas solitárias em ninhos armadilhas (Hymenoptera, Apocrita, Aculeata). **Rev. Bras. Entomol.** **39**: 459-470.
- CAMILLO, E. & A.D. BRESOVIT. 1999a. Aspectos biológicos de *Trypoxylon (Trypargilum) lactitarse* Saussure e *Trypoxylon (Trypargilum) rogenhoferi* Kohl (Hymenoptera: Sphecidae) em ninhos-armadilhas, com especial referência a suas presas. **An. Soc. Entomol. Brasil** **28**: 251-262.

- CAMILLO, E. & A.D. BRESCOVIT. 1999b. Spiders (Araneae) captured by *Trypoxylon (Trypargilum) lactitarse* (Hymenoptera: Sphecidae) in southeastern Brazil. **Rev. Biol. Trop.** **47**: 151-162.
- CANDY, D.J., B.A. KILBY (Eds.). 1975. **Insect biochemistry and function**. London, Chapman and Hall, 413p.
- CHAPMAN, T.W. & B. CRESPI. 1998. High relatedness and inbreeding in two species of haplodiploid eusocial thrips (Insecta: Thysanoptera) revealed by microsatellite analysis. **Behav. Ecol. Sociobiol.** **43**: 301-306.
- CHAPMAN, T.W. & S.C. STEWART. 1996. Extremely high levels of inbreeding in a natural population of the free-living wasp *Ancistrocerus antilope* (Hymenoptera: Vespidae: Eumeninae). **Heredity** **76**: 65-69.
- CHAPUISAT, M. & L. KELLER. 1999. Testing kin selection with sex allocation data in eusocial Hymenoptera. **Heredity** **82**: 473-478.
- CHAPUISAT, M., J. GOUDET, & L. KELLER. 1997. Microsatellites reveal high population viscosity and limited dispersal in the ant *Formica paralugubris*. **Evolution** **51**: 475-482.
- CHARNOV, E.L. 1982. **The theory of sex allocation**. Princeton, 480p.
- COELHO, J.R. & C. W. HOLLIDAY. 2001. Effects of size and flight performance on intermale mate competition in cicada killer, *Sphecius speciosus* Drury (Hymenoptera: Sphecidae). **J. Insect Behav.** **14**: 345-351.
- COOK, J.M. 1993. Sex determination in the Hymenoptera: a review of models and evidence. **Heredity** **71**: 421-435.
- COSTA, J.T. & N.E. PIERCE. 1996. Social evolution in the Lepidoptera: ecological context and communication in larval societies. In: **The evolution of social behavior in insects and arachnids**. Choe, J.C. & Crespi, B.J. (Eds.). Cambridge Univ. Press. London. pgs. 407-442.
- COVILLE, R.E. & P. L. COVILLE. 1980. Nesting biology and male behavior of *Trypargilum tecnocitlan* in Costa Rica (Hymenoptera: Sphecidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.** **73**: 110-119.
- COVILLE, R.E. & C. GRISWOLD. 1984. Biology of *Trypoxylon (Trypargilum) superbum* (Hymenoptera: Sphecidae), a spider-hunting wasp with extended guarding of the brood by males. **J. Kans. Entomol. Soc.** **57**: 365-376.
- COVILLE, R.E., C. GRISWOLD & P.L. COVILLE. 2000. Observations on the nesting biology and behavior of *Trypoxylon (Trypargilum) vagulum* (Hymenoptera: Sphecidae) in Costa Rica. **Pan-Pac Entomol.** **76**(1): 28-48.
- COWAN, D.P. 1991. The solitary and presocial Vespidae. In: K.G. Ross & R. W. Matthews (Eds.). **The social biology of wasps**. Cornell University Press, Ithaca. pgs. 33-73.
- CRESPI, B.J. 1991. Heterozygosity in the haplodiploid Thysanoptera. **Evolution** **45**: 458-464.
- CRESPI, B.J. & D. YANEGA. 1995. The definition of eusociality. **Behav. Ecol.** **6**: 109-115.
- CRESPI, B.J. & J.C. CHOE. 1997. Explanation and evolution of social systems. In: **The evolution of social behavior in insects and arachnids**. Choe, J.C. & Crespi, B.J. (Eds.). Cambridge Univ. Press. London. pgs. 499-524.
- CROSS, E.A., M.G. STITH & T.R. BAUMAN. 1975. Bionomics of the organ-pipe mud dauber, *Trypoxylon politum* (Hymenoptera: Sphecidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.** **68**: 901-915.
- CROZIER R.H. & P. PAMILO. 1996. Evolution of social insect colonies. Sex allocation and kin selection. In: R.M. MAY & P.H. HARVEY (Eds.). **Oxford series in ecology and evolution**. New York: Oxford University Press, 306 p.

- CRUZ, Y.P. 1981. A sterile defender morph in a polyembryonic hymenopterous parasite. **Nature** **294**: 446-447.
- DESLIPPE, R.J. & R. SAVOLAINEN. 1995. Sex investment in a social insect: the proximate role of food. **Ecology** **76**: 375-382.
- DIAS, B.F.S. 1975. Comportamento pré-social de sínfitas do Brasil Central. I. *Themos olfersii* (Klug) (Hymenoptera, Argidae). **Studia Entomologica** **18**: 401-432.
- DIAS, B.F.S. 1976. Comportamento pré-social de sínfitas do Brasil Central. II. *Dielocerus diasi* Smith, 1975 (Hymenoptera, Argidae). **Studia Entomologica** **19**: 461-501.
- EGGERT, A.K. & J.K. MÜLLER. 1996. Biparental care and social evolution in burying beetles: lessons from the larder. In: **The evolution of social behavior in insects and arachnids**. Choe, J.C. & Crespi, B.J. (Eds.). Cambridge Univ. Press. London. pgs. 216-236.
- EVANS, H. E. & M.J. WEST-EBERHARD. 1970. **The Wasps**. University of Michigan. Press, Ann Arbor, 265p.
- FISHER, R.A. 1930. **The genetical theory of natural selection**. Clarendon Press. Oxford, 230 p.
- FLANDERS, S.E. 1965. On the sexuality and sex ratios of hymenopterous populations. **Am. Nat.** **93**: 489-494.
- FREEMAN, B. 1981. Parental investment, maternal size, and population dynamics in a solitary wasp. **Am. Nat.** **117**: 357-362.
- FROHLICH, D.R. & V.J. TEPEDINO. 1986. Sex ratio, parental investment, and interparent variability in nesting success in a solitary bee. **Evolution** **40**: 142-151.
- GARCIA, M.V.B. & J. ADIS. 1995. Comportamento de nidificação de *Trypoxylon (Trypargilum) rogenhoferi* Kohl (Hymenoptera, Sphecidae) em uma floresta inundável de várzea na Amazônia Central. **Amazoniana** **13**: 259-282.
- GATHMANN, A., H.J. GREILER & T. TSCHARNTKE. 1994. Trap-nesting bees and wasps colonizing set-aside fields: succession and body size, management by cutting and sowing. **Oecologia** **98**: 8-14.
- GAULD, I. & BOLTON, B.(Eds.) 1996. **The Hymenoptera**. (2nd. Ed.). Oxford University Press. London. 839 p.
- GAULD, I.D. & HANSON, P.E 1995. The biology of Hymenoptera, p. 20-88. In: P.E. HANSON & I.A. GAULD (Eds.). **The Hymenoptera of Costa Rica**. New York, Oxford University Press, 893 p.
- GERBER, H.S. & E.C. KLOSTERMEYER. 1970. Sex control by bees: a voluntary act of egg fertilization during oviposition. **Science** **167**: 82-84.
- GHAZOUL, J. 2001. Effect of soil hardness on aggression in the solitary wasp *Mellinus arvensis*. **Ecol. Entomol.** **26**: 457-466.
- GOMES, L.F., S.G. POMPOLO, & L.A.O. CAMPOS. 1995. Cytogenetics analysis of three species of *Trypoxylon (Trypoxylon)* (Hymenoptera, Sphecidae, Larrinae). **Rev. Brasil. Genet.** **18**: 173-176.
- GOMES, L.F., S.G. POMPOLO, & L.A.O. CAMPOS. 1997. Karyotype evolution in wasps of the genus *Trypoxylon* (subgenus *Trypargilum*) (Hymenoptera, Sphecidae). **Brazil. J. Genet.** **20**: 177-183.
- GOULET, H. & J.T. HUBER. 1993. **Hymenoptera of the World: An identification guide to families**. Agriculture Canada, Ottawa, 753p.

- GRAUR, D. 1985. Gene diversity in Hymenoptera. **Evolution** **39**: 190-199.
- GREEN, R.F. 1982. Optimal foraging and sex ratio in parasitic wasps. **J. Theor. Biol.** **95**: 43-48.
- HALLDAY, R.B. 1981. Heterozygosity and genetic distance in sibling species of meat ants (*Iridomyrmex purpureus* group). **Evolution** **35**: 234-242.
- HAMILTON, W. D. 1967. Extraordinary sex ratios. **Science** **156**: 477-488.
- HAMILTON, W. D. 1972. Altruism and related phenomena, mainly in social insects. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** **3**: 193-233.
- HANSON, P.E. & A.S. MENKE. 1995. The sphecid wasps (Sphecidae). In: **The Hymenoptera of Costa Rica**. P.E. Hanson & I.A. Gauld (Eds.): p621-649.
- HARRIS, H. & HOPKINSON, D.A. 1976. **Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics**. North-Holland Publishing Co. Amsterdam, 630p
- HAVRON, A., D. ROSEN, Y. RÖSSLER & J. HILLEL. 1987. Selection on the male hemizygous genotype in arrenotokous insects and mites. **Entomophaga** **32**: 261-268.
- HELMS, K.R. 1994. Sexual size dimorphism and sex ratios in bees and wasps. **Am. Nat.** **143**: 418-434.
- HILL, W.G. 1974. Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations. **Heredity** **33**: 229-239.
- HONEK, A. 1993. Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: a general relationship. **Oikos** **66**: 483-492.
- HOOK, A.W. & R.W. MATTHEWS. 1980. Nesting biology of *Oxybelus sericeus* with a discussion of nest guarding by males sphecid wasps (Hymenoptera). **Psyche** **87**: 21-37.
- HOY, M.A. 1994. **Insect molecular genetics: an introduction to principles and applications**. San Diego, Academic Press, 453p.
- HUNT, J.H. 1999. Trait mapping and salience in the evolution of eusocial vespid wasps. **Evolution** **53**: 225-237.
- HUNTER, F.M., M. PETRIE, M. OTRONEN, T. BIRKHEAD & A. P. MØLLER. 1993. Why do females copulate repeatedly with one male? **Trends Ecol. Evol.** **8**: 21-26.
- IMAI, H.T., R.W. TAYLOR, M.W.J. CROSLAND & R.H. CROZIER. 1988. Modes of spontaneous chromosomal mutation and karyotype evolution in ants with reference to the minimum interation hypothesis. **Jap. J. Genet.** **63**: 159-185.
- ITÔ, Y. 1993. **Behaviour and social evolution of wasps. The communal aggregation hypothesis**. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford Univ. Press, 159p.
- JONES, D. 1983. **A guide to spiders of Britain and northern Europe**. London: Hamlyn, 320p.
- KERR, W.E. 1987. Sex determination in bees. XVII. Systems of caste determination in the Apinae, Meliponinae and Bombinae and their phylogenetic implications. **Rev. Brasil. Genet.** **10**: 685-694.
- KERR, W.E. 1997. Sex determination in honey bees (Apinae and Meliponinae) and its consequences. **Brazil J Genet** **20**: 601-611.
- KIMSEY, L.S. 1978. Nesting and male behavior in *Dynatus nigripes spinole* (Lepeletier). **Pan-Pacific Entomologist** **54**: 64-68.
- KIRKPATRICK, M. & R. LANDE. 1989. The evolution of maternal characters. **Evolution** **43**: 485-503.

- KROMBEIN, K. V. 1967. **Trap-nesting wasps and bees: life histories, nests and associates.** Washington, Smithsonian Press, 469p.
- KUKUK, P. F. & B. MAY. 1985. A re-examination of genetic variability in *Dialictus zephyrus* (Hymenoptera: Halictidae). **Evolution** **39**: 226-228.
- KUKUK, P. F. & G. K. SAGE. 1994. Reproductivity and relatedness in a communal halictine bee *Lasioglossum (Chialictus) hemichalceum*. **Ins. Soc.** **41**: 443-455.
- LENKO, K. & N. PAPAVERO. 1996. **Insetos no folclore.** (2a. Ed.). São Paulo: Plêiade / FAPESP. 468p.
- LESTER, L.J. & R.K. SELANDER. 1979. Population genetics of haplodiploid insects. **Genetics** **92**: 1329-1345.
- LEWIS, P. O. & D. ZAYKIN. 2001. **Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c).** Free program distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>.
- LEWIS, S.M. & E. JUTKIEWICZ. 1998. Sperm precedence and sperm storage in multiply mated red flour beetles. **Behav. Ecol. Sociobiol.** **43**: 365-369.
- MAGURRAN, A.E. 1988. **Ecological diversity and its measurement.** London, Chapman & Hall, 179p.
- MANLY, B.F.J. 1994. **Multivariate statistical methods. A primer.** (2nd. Ed.). London, Chapman & Hall, 215p.
- MARTINS, R.P., Y. ANTONINI, F.A.SILVEIRA & S.A. WEST. 1999. Seasonal variation in the sex allocation of a neotropical solitary bee. **Behav. Ecol.** **10**: 401-408.
- MATTHEWS, R. W. 1991. Evolution of social behavior in sphecid wasps. In: K.G. Ross & R. W. Matthews (Eds.). **The social biology of wasps.** Cornell University Press, Ithaca. pgs. 570-602.
- MELO, G.A.R. 1999. Phylogenetic relationships and classification of the major lineages of Apoidea (Hymenoptera), with emphasis on the crabronid wasps. **Scientific Papers, Natural History Museum, The University of Kansas** **14**: 1-55.
- MELO, G.A.R. 2000. Comportamento social em vespas da família Sphecidae (Hymenoptera, Apoidea). In: Martins, R. P., Lewinsohn, T. M. & Barbeitos, M. S. (Eds.). Ecologia e comportamento de Insetos. **Oecologia Brasiliensis** **3**: 85-130. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro.
- METCALF, R.A., J.C. MARLIN & G.S. WHITT. 1975. Low levels of genetic heterozygosity in Hymenoptera. **Nature** **257**: 792-794.
- MICHENER, C.D. 1974. **The social behavior of the bees. A comparative study.** The Belknap Press. Cambridge, 404p.
- MOLUMBY, A. 1997. Why make daughter larger? Maternal sex-allocation and sex-dependent selection for body size in a mass-provisioning wasp, *Trypoxylon politum*. **Behav. Ecol.** **8**: 279-287.
- MOUSSEAU, T.A. & C.W. FOX. 1998. The adaptive significance of maternal effects. **Trends Ecol. Evol.** **13**: 403-407.
- MÜLLER, J.K. & A.K. EGGERT. 1989. Paternity assurance by 'helpful' males: adaptations to sperm competition in burying beetles. **Behav. Ecol. Sociobiol.** **24**: 345-349.
- NEI M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics** **89**: 583-590.

- O'NEIL, K.M. 1985. Egg size, prey size, and sexual size dimorphism in digger wasps (Hymenoptera: Sphecidae). **Can. J. Zool.** **63**: 2187-2193.
- OKU, S. & T. NISHIDA. 1999. Factors affecting female-biased sex ratio in trap-nesting wasp, *Trypoxylon malaisei*. **Res. Popul. Ecol. (Kyoto)** **41**: 169-175.
- OKU, S. & T. NISHIDA. 2001. Presence of single-sex broods under local mate competition in *Trypoxylon malaisei* (Hymenoptera: Sphecidae): Adaptation or maladaptation? **Ann. Entomol. Soc. Am.** **94**: 550-554.
- PACKER, L. & R. E. OWEN. 1992. Variable enzyme systems in Hymenoptera. **Biochem. Syst. Ecol.** **20**(1): 1-7.
- PACKER, L. & R. E. OWEN. 1990. Allozyme variation, linkage disequilibrium and diploid male production in a primitively social bee *Augochlorella striata* (Hymenoptera; Halictidae). **Heredity** **65**: 241-248.
- PACKER, L., C. PLATEAUX-QUÉNU, & R.E. OWEN. 1992. Electrophoretic evidence that *Lasioglossum (Evyllaesus) mediterraneum* (Blüthgen) is a species distinct from *L. (E.) laticeps* (Schenck) (Hymenoptera, Halictidae), with notes on its phylogenetic position. **Can. Ent.** **124**: 371-380.
- PERUQUETTI, R.C. & DEL LAMA, M.A. 2002. Biologia de nidificação de *Trypoxylon asuncicola* (Hymenoptera: Sphecidae). **Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Zoologia** 178.
- PETERS, J.M., D.C. QUELLER, V.L. IMPERATRIZ-FONSECA, D.W. ROUBIK, & J.E. STRASSMANN. 1999. Mate number, kin selection and social conflicts in stingless bees and honeybees. **Proc. R. Soc. Lond. B** **266**: 379-384.
- PFENNIG, D.W. & H.K. REEVE. 1993. Nepotism in a solitary wasp as revealed by DNA fingerprinting. **Evolution** **47**: 700-704.
- QUELLER, D.C. & K.F. GOODNIGHT. 1989. Estimating relatedness using genetic markers. **Evolution** **43**: 258-275.
- QUELLER, D.C., J.E. STRASSMANN, & C.R. HUGHES. 1993. Microsatellites and kinship. **Trends Ecol. Evol.** **8**: 285-288.
- REEVE, H.K., J.S. REEVE, & D.W. PFENNIG. 1985. Eusociality and genetic variability: a re-evaluation. **Evolution** **39**: 200-201.
- REHNBERG, B.G. 1987. Selection of spider prey by *Trypoxylon politum* (Say) (Hymenoptera: Sphecidae). **Can. Ent.** **119**: 189-194.
- REID, M.L. & B.D. ROITBERG. 1994. Benefits of prolonged male residence with mates and brood in pine engravers (Coleoptera: Scolytidae). **Oikos** **70**: 140-148.
- RICHARDS, M.H. 1994. Social evolution in the genus *Halictus*: a phylogenetic approach. **Ins. Soc.** **41**: 315-325.
- RICHARDS, O. W. 1934. The American species of the genus *Trypoxylon*. **Trans R. Ent. Soc. Lond.** **82**: 173-362.
- ROSENMEIER, L. & L. PACKER. 1993. A comparison of genetic variation in two sibling species pairs of haplodiploid insects. **Biochem. Genet.** **31**: 185-200.
- ROSS, K. G., E.L. VARGO & D. J. C. FLETCHER. 1987. Comparative biochemical genetics of three fire ant species in North America, with special reference to the two social forms of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). **Evolution** **41**: 979-990.
- ROSS, K.G. & D.J.C. FLETCHER. 1985. Genetic origin of male diploidy in the fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae), and its evolutionary significance. **Evolution** **39**: 888-903.

- SAKAGAMI, S.F., N. GOBBI, & R. ZUCCHI. 1990. Nesting biology of a quasisocial sphecid wasp *Trypoxylon fabricator* I. Nests and inhabitants. **Jpn. J. of Entomol.** **58**: 846-862.
- SCHER, R. 1996. **Diversidade cariotípica em uma população de *Trypoxylon (Trypargilum) nitidum* (F. Smith) do Parque Florestal do Rio Doce (MG)**. Tese de mestrado. UFV/MG.
- SCHWARZ, M.P. 1988. Local resource enhancement and sex ratios in a primitively social bee. **Nature** 331: 346-348.
- SHOEMAKER, D. D., J. T. COSTA & K. G. ROSS. 1992. Estimates of heterozygosity in two social insects using a large number of electrophoretic markers. **Heredity** **69**: 573-582.
- SIEGEL, S. 1956. **Nonparametric statistics for the behavioral sciences**. New York: McGraw-Hill. 312p.
- SMITH, R.L. 1979. Repeated copulation and sperm precedence: paternity assurance for a male brooding water bug. **Science** **205**: 1029-1031.
- SMITHIES, O. 1955. On eletrophoresis in starch gels: group variation in the serum proteins of normal human adults. **Biochem. J.** **61**: 620-641.
- SOKAL, R.R. & F.J. ROHLF. 1995. **Biometry. The principles and practice of statistics in biological research**. (3rd. Ed.). W. H. Freeman and Company, 887p.
- STARK, A.E. 1992. Sex ratio and maternal investment in the multivoltine large carpenter bee, *Xylocopa sulcatipes* (Apoidea: Anthophoridae). **Ecol. Entomol.** **17**: 160-166.
- STARR, C.K. 1991. The nest as the locus of social life. In: K.G. Ross & R. W. Matthews (Eds.). **The social biology of wasps**. Cornell University Press, Ithaca. pgs. 520-539.
- STROHM, E. & K.E. LINSENMAIR. 1997a. Low resource availability causes extremely male-biased investment ratios in the European beewolf, *Philanthus triangulus* F. (Hymenoptera, Sphecidae). **Proc. R. Soc. Lond B** **264**: 423-429.
- STROHM, E. & K.E. LINSENMAIR. 1997b. Female size affects provisioning and sex allocation in a digger wasp. **Anim. Behav.** **54**: 23-34.
- STROHM, E. & K.E. LINSENMAIR. 1999. Measurement of parental investment and sex allocation in the European beewolf *Philanthus triangulus* F. (Hymenoptera: Sphecidae). **Behav. Ecol. Sociobiol.** **47**: 76-88.
- STROHM, E. & K.E. LINSENMAIR. 2000. Allocation of parental investment among individual offspring in the European beewolf *Philanthus triangulum* F. (Hymenoptera: Sphecidae). **Biol. J. Linn. Soc.** **69**: 173-192.
- STROHM, E. & LECHNER. 2000. Male size does not affect territorial behaviour and life history traits in a sphecid wasp. **Anim. Behav.** **59**: 183-191.
- SUGG, D.W., R.K. CHESSER, F.S. DOBSON & J.L. HOOGLAND. 1996. Population genetics meets behavioral ecology. **Trends Ecol. Evol.** **11**: 338-342.
- SWOFFORD D.L., R.K. SELANDER. 1981. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis for electrophoretic data in population genetics and systematics. **J. Hered.** **72**: 281-283.
- TAKAHASHI, N.C., R.C. PERUQUETTI, M.A. DEL LAMA & L.A.O. CAMPOS. 2001. A reanalysis of diploid male frequencies in euglossine bees (Hymenoptera: Apidae). **Evolution** **55**: 1897-1899
- THORNHILL, R. & J. ALCOCK. 1984. **The evolution of insects mating systems**. Cambridge, Harvard Univ. Press, 215p.

- TREXLER, J.C. & J. TRAVIS. 1993. Nontraditional regression analyses. **Ecology** **74**: 1629-1637.
- TRIVERS, R.L. & H. HARE. 1976. Haplodiploidy and the evolution of the social insects. **Science** **191**: 249-263.
- VOLKOVA, T., R.W. MATTHEWS & M.C. BARBER. Spider prey of two mud dauber wasps (Hymenoptera: Sphecidae) nesting in Georgia's Okefenokee Swamp. **J. Entomol. Sci.** **34**(3): 322-327.
- WAGNER, A.E. & D.A. BRISCOE. 1983. An absence of enzyme variability within two species of *Trigona* (Hymenoptera). **Heredity** **50**: 97-103.
- WALIN, L., P. SEPPA. 2001. Resource allocation in the red ant *Myrmica ruginodis* - an interplay of genetics and ecology. **J. Evol. Biol.** **14**: 694-707.
- WEIR, B.S. 1996. **Genetic data analysis**. (2nd. Ed.). Sinauer Ass. Inc., Massachusetts, 304p.
- WEIR, B.S. & C.C. COCKERHAM. 1984. Estimating F-statistics for analysis of population structure. **Evolution** **38**: 1358-1370.
- WHINTING, P.W. 1939. Sex determination and reproductive economy in *Habrobracon*. **Genetics** **24**: 110-111.
- WIERNASZ, D.C., A. SATER, A. ABELL & B.J. COLE. 2001. Male size, sperm transfer, and colony fitness in the western harvester ant, *Pogonomyrmex occidentalis*. **Evolution** **55**: 324-329.
- WILKINSON, G.S. & G.F. McCracken. 1985. On estimating relatedness using genetic markers. **Evolution** **39**: 1169-1174.
- WILSON, E.O. 1971. **The insect societies**. The Belknap Press. Cambridge, 548p.
- WOYKE, J. 1986. Sex determination. In: Rinderer T.E. (Ed.). **Bee genetics and breeding**. Academic Press. New York, 365p.
- YANEGA, D. 1990. Phylopatry and nest founding in a primitively social bee, *Halictus rubicundus*. **Behav. Ecol. Sociobiol.** **27**: 37-42.
- YANEGA, D. 1996. Sex ratio and sex allocation in sweat bees (Hymenoptera: Halictidae). **J. Kans. Entomol. Soc.** **69**: 98-115.
- YEH F.C., F.C., T. BOYLE, Y. RONGCAI, Z. YE & J.M. XIYAN . 1999. **Popgene Version 1.31. Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis**. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/fyeh>.
- ZAR, J.H. 1999. **Biostatistical analysis**. (4th. Ed.). Prentice Hall. London, 663p.