



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ



TALISSON SOUZA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO CARIOTÍPICA DE ESPÉCIES DE GÊNERO *Polybia*
LEPELETIER, 1836 (HYMENOPTERA, VESPIDAE, EPIPONINI)**

ILHÉUS – BAHIA

2018

TALISSON SOUZA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO CARIOTÍPICA DE ESPÉCIES DE GÊNERO *Polybia*
LEPELETIER, 1836 (HYMENOPTERA, VESPIDAE, EPIPONINI)**

**Dissertação apresentada à Universidade
Estadual de Santa Cruz como requisito para
obtenção do título de Mestre em Zoologia
Aplicada.**

Orientador: Dr. Marco Antonio Costa

ILHÉUS – BAHIA

2018

TALISSON SOUZA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO CARIOTÍPICA DE ESPÉCIES DE GÊNERO *Polybia*
LEPELETIER, 1836 (HYMENOPTERA, VESPIDAE, EPIPONINI)**

Dr. Marco Antonio Costa

(Orientador)

DCB / UESC

Dra. Cléa dos Santos Ferreira Mariano

DCB / UESC

Dr. Cláudio Antônio Ferreira de Melo

DCB / UESC

RESUMO

Vespas sociais são importantes agentes polinizadores, úteis ao controle biológico, servindo como modelos para estudos de evolução do comportamento social e outras abordagens evolutivas. No presente estudo, foram analisados dados cariotípicos de doze espécies do gênero *Polybia*. As espécies coletadas foram *Polybia (Hypopolybia) quadricincta* de Saussure 1854, *Polybia (Apopolybia) jurinei* de Saussure, 1854, *Polybia (Myrapetra) occidentalis* Olivier, 1792, *Polybia (Myrapetra) sp1*, *Polybia (Myrapetra) sp2*, *Polybia (Myrapetra) sp3* e *Polybia (Myrapetra) sp4*, *Polybia (Myrapetra) sp5*, *Polybia (Myrapetra) sp6*, *Polybia sp7*. Estas coletas foram realizadas nos municípios Coaraci - BA (14° 38' 27" S, 39° 33' 03" O), Ilhéus - BA (14° 47' 20" S, 39° 02' 56" O), Itagí - BA (14° 09' 46" S, 40° 00' 21" O), Ituberá - BA (13° 43' 55" S, 39° 8' 56" O) e Una - BA (15° 17' 34" S, 39° 04' 30" O). Espécimes adultos foram montados em alfinetes entomológicos e depositados na coleção entomológica da Universidade Estadual de Santa Cruz. Os cromossomos metafásicos foram obtidos a partir de células do gânglio cerebral dos espécimes coletados na fase pré-pupa. Os resultados demonstraram uma variação significativa no número cromossômico de *Polybia*, de $2n = 10$ a $2n = 58$. O número $2n = 34$ tem se mostrado como o mais frequente até o momento, no entanto, dada a grande diversidade existente, a determinação segura de um número cromossômico basal do grupo é ainda incipiente. Os dados obtidos com a coloração por fluorocromos mostraram importantes características que fogem de um padrão comum ao gênero e podem ser úteis como marcador citológico para separar grupos de espécies. Este trabalho amplia o conhecimento cariotípico das vespas, além de avaliar no gênero *Polybia*, a hipótese de evolução cromossômica a partir de fusões dos cromossomos causando diminuição do número cariotípico sugerido em estudos anteriores com a tribo Epiponini.

Palavras chave: Cariótipos, Cromossomos, Evolução cromossômica, Vespas.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	MATERIAL E MÉTODOS	7
2.1	COLETA DOS NINHOS	7
2.2	PREPARAÇÃO E ANÁLISE DAS LÂMINAS.....	8
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	9
4	REFERÊNCIAS.....	19

1 INTRODUÇÃO

1.1. As Vespas e sua importância em estudos biológicos

A ordem Hymenoptera apresenta cerca de 130.000 espécies e é composta por abelhas, formigas e vespas com distribuição por todo o planeta (West-Eberhard et al. 1995). Diversas espécies de vespas são predadoras de diferentes pragas agrícolas, tornando-se agentes valiosos no controle biológico. Entre as vespas sociais, algumas são importantes agentes polinizadores e constituem modelos interessantes para estudos da evolução do comportamento social) (Ross and Matthews, 1991).

A família Vespidae é dividida em seis subfamílias, apresentando diferentes níveis de sociabilidade. No Brasil, apenas três subfamílias foram registradas: Masarinae (297 espécies), Eumeninae (maior subfamília com mais de 3.000 espécies) e Polistinae (900 espécies) (Carpenter e Marques 2001).

A subfamília Polistinae, com representantes distribuídos por todo o mundo, está dividida em quatro tribos: Polistini (*Polistes*) com distribuição cosmopolita, Mischocyttarini (*Mischocyttarus*) restrita ao Novo Mundo, Ropalidiini (*Ropalidia*, *Parapolybia*, *Polybioidese* *Belanogaster*) presente nos trópicos orientais e Austrália e por fim Epiponini, exclusiva da região Neotropical (Wilson 1971 e Carpenter 1996).

A tribo Epiponini compreende a maioria dos gêneros da fauna neotropical de vespas sociais, com 19 gêneros (Carpenter e Marques 2001). São conhecidas como vespas sociais neotropicais enxameadoras, pela sua maneira de fundar novas colônias, diferentemente das outras duas tribos que ocorrem na região neotropical (Carpenter e Marques 2001). Essa tribo tem grande importância para a compreensão da evolução do comportamento social uma vez que apresenta diferentes formas de estrutura social entre os gêneros, variando de sociedades sem distinção morfológica de castas até aquelas com morfologia diferente entre rainhas e operárias (Noll e Zucchi 2000, 2002, Noll e Wenzel 2008).

Polybia Lepelletier, 1836 é um gênero com 58 espécies válidas, que ocorrem entre o sul dos Estados Unidos e o norte da Argentina (Richards 1978, Carpenter e Marques

2001). No Brasil já foram registradas 44 espécies, das quais três são endêmicas (Richards 1978, Jeanne 1991, Carpenter e Marques 2001). Algumas espécies de *Polybia* são conhecidas pela sua dolorosa ferroada, como é o caso de *Polybia ignobilis* que também tem sido importante para uso no controle de pragas (Marques, 1989; Silva et al., 1968; Gobbi e Machado, 1986). Por causa da grande variação de características morfológicas (polimorfismos), são encontrados vários problemas no gênero relativos à sua classificação e distinção. Richards (1978) pontuou que as espécies que não se enquadram em nenhum outro gênero são agrupadas em *Polybia*.

As espécies estão divididas em 11 subgêneros (Carpenter et al., 2001). *Polybia* (*Myrapetra*) é o maior subgênero com espécies pequenas quando comparado aos demais subgêneros de *Polybia*. Este subgênero é problemático quanto à classificação, já que inclui muitas espécies que se diferenciam pela variedade da coloração (Richards, 1978). O grupo *Polybia occidentalis*, que engloba 12 espécies, é um exemplo, pois as espécies e subespécies são definidas pela coloração amarela em diferentes partes do corpo (Richards, 1978), o que muitas vezes pode não justificar a separação entre elas. Existe ainda variação dentro do subgênero na pilosidade do olho com dois estados (ausência e presença de pelos) e carena pronotal dorsal (presente ou ausente) (Carpenter et al., 2001).

A dificuldade de encontrar autapomorfias para *Polybia* é grande, tanto para adultos, quanto para larvas (Kojima, 1998) e arquitetura de ninhos (Wenzel, 1998), pois muitos caracteres com estados polimórficos são encontrados nos gêneros.

1.2. Citogenética

A citogenética, por meio do estudo da estrutura e das variações cromossômicas constitui-se numa ferramenta adicional aos estudos dos mecanismos envolvidos nos processos evolutivos das espécies. Sua aplicação é importante para estudos de filogenia, taxonomia, dos mecanismos de especiação e da variabilidade genética (GOMES, 1995). Os parâmetros mais utilizados nos estudos citogenéticos são número, morfologia e estruturas cromossômicas.

Dados citogenéticos relativos a roedores (GREENBAUM et al., 1978), moluscos (PASCOE et al., 1996) e morcegos (BAKER et al., 1985), por exemplo, confirmaram a

importância da citotaxonomia como ferramenta para subsidiar estudos relacionados à biologia de diversos grupos de animais.

A ordem Hymenoptera tem ocupado um lugar de destaque na citogenética animal em razão do crescente número de espécies analisadas cariotipicamente e da observação dos mais diversos tipos de rearranjos cromossômicos encontrados em níveis inter e intra-específicos, além das variações populacionais (GOMES, 1995). Estudos citogenéticos foram realizados em diversos gêneros de abelhas (KERR, 1948; KERR, 1952, 1969, 1972; KERR e SILVEIRA, 1972; HOSHIBA, 1988; POMPOLO e CAMPOS, 1995; MOREIRA, 1997; MENEZES, 1997; BRITO et al., 1997; BRITO, 1998; ROCHA e POMPOLO, 1998; CAIXEIRO, 1999; BRITO-RIBON et al., 1999; ROCHA et al., 2002; ROCHA, 2002; MAMPUMBU, 2002; SCHER, 1996; ARAÚJO et al., 2000) vespas (HOSHIBA et al. 1989, GOMES, 1995, MENEZES et al., 2014) e formigas.

Na família Formicidae, já foram analisados os cariótipos de mais de 500 espécies (IMAI et al. 1988a, 1994, ...). Os resultados indicam que grande número dessas espécies apresenta variações numéricas e estruturais nos seus cromossomos, sendo esta família, a mais representada em estudos citogenéticos entre os himenópteros. Apresenta ampla variação no número haplóide de cromossomos conhecidos $n=1$ em *Myrmecia croslandi* (CROSLAND e CROZIER, 1986); a $n=47$ em *Prionomyrmex* (IMAI et al., 1990)

Estudos citogenéticos em vespas são relativamente recentes (Tabela 1) e ainda apresentam poucos dados em relação a outros gêneros da tribo Epiponini. Não há dados citogenéticos comparativos dentro do gênero *Polybia*, porém análises incluindo algumas espécies já foram desenvolvidas por Pompolo e Takahashi (1990) e Menezes et al (2014). Hoshiba et al. (1989) afirmam que, embora a análise dos cromossomos de vespas sociais seja escassa, o número cromossômico quando comparado com aqueles de outros Hymenoptera é muito variável.

No presente estudo, doze espécies do gênero *Polybia* foram analisadas e caracterizadas citogeneticamente por meio das técnicas coloração convencional e fluorocromo base-específicos. Os dados obtidos foram analisados e comparados com dados disponíveis e discutidos a luz de hipóteses de evolução cromossômica propostas para o grupo em estudos anteriores.

1.2.1. Fluorocromos

Os fluorocromos são corantes que quando excitados por luz de um comprimento de onda específico fluorescem pela conversão de uma pequena porção de energia que não é absorvida pela substância, sendo emitida em um processo conhecido como fluorescência (PIECZARKA e MATTEVI, 1998). A microscopia de fluorescência é baseada na capacidade dos fluorocromos de absorver energia em certos comprimentos de onda e emitir energia no comprimento de luz visível. Um microscópio de fluorescência é composto de uma fonte iluminadora, lentes de aumento e de filtros de luz. A microscopia de fluorescência mais utilizada é a epifluorescência, na qual o material contendo o fluorocromo é iluminado por cima. (PIECZARKA e MATTEVI, 1998).

Os fluorocromos mais utilizados na coloração cromossômica diferencial podem ser divididos em duas classes, de acordo com suas afinidades pelas bases AT ou GC. Na primeira classe, podem se citar o 4-6-diamidino-2-fenylindole (DAPI) e a Quinacrina Mostarda (QM), enquanto na segunda classe podem ser encontradas a Cromomicina A3 (CMA3) e a Mitramicina (VERMA e BABU, 1995; PIECZARKA e MATTEVI, 1998).

Segundo Sumner (1990), Carpersson, em 1968, foi o primeiro pesquisador a utilizar a quinacrina mostarda, introduzindo os fluorocromos na citogenética. Esse bandejamento revolucionou a citogenética, permitindo a identificação dos pares de cromossomos homólogos. Entretanto, logo foi substituído pelo bandejamento G, pois a QM, assim como a maioria dos fluorocromos, proporcionava baixo contraste entre as bandas claras e escuras e rápida perda da fluorescência, mesmo sob rápida excitação de luz. Por esse motivo, as técnicas de bandejamento fluorescente foram subutilizadas por alguns anos. Mais recentemente foram desenvolvidos métodos para superar tais dificuldades, como a substituição da sacarose por glicerol em meio à montagem da lâmina, fornecendo maior estabilidade à fluorescência. Além disso, foi desenvolvida uma nova técnica, na qual são utilizadas substâncias chamadas de contracorantes, que têm o papel de realçar a marcação do fluorocromo.

De maneira geral, os fluorocromos DAPI, QM e CMA₃ são utilizados em citogenética para produzir informações a respeito da composição de pares de bases de certas

regiões dos cromossomos. Araújo et al. (2000), estudando a vespa *Trypoxylon albitarse*, obtiveram um padrão complementar de bandas ao utilizarem os fluorocromos CMA₃ e QM, no qual a CMA₃ evidenciou as regiões de heterocromatina e a QM, a região de eucromatina. Já os cromossomos da abelha *Tetragonisca angustula*, estudada por Menezes (1997), apresentaram as regiões de heterocromatina rica em pares de bases AT (DAPI positivas), com exceção de algumas regiões terminais de alguns cromossomos que se mostraram fortemente marcados pela CMA₃. Sendo algumas dessas mesmas regiões CMA₃ positivas coincidentes com as regiões de banda NOR positiva. Brito (1998), trabalhando com a abelha *Partamona helleri*, encontrou uma correlação positiva entre as regiões CMA₃ e as marcações de FISH obtidas com sonda para rDNA.

1.2..2 Rearranjos cromossômicos

Os rearranjos cromossômicos a exemplo das translocações, as inversões, as duplicações e as deleções, podem ocorrer em um único ou em vários cromossomos do cariótipo. Estes processos envolvem a quebra dos cromossomos e, eventualmente, sua reunião num ponto diferente do original. Os rearranjos do tipo inversões são aqueles que envolvem duas quebras em um cromossomo, seguidas da reunião de maneira invertida do fragmento originado, alterando a seqüência gênica. Quando as quebras ocorrem no mesmo braço do cromossomo, sem envolver o centrômero, a inversão é paracêntrica e não muda a morfologia ou o número cromossômico. As quebras pericêntricas são aquelas que envolvem o centrômero do cromossomo, provocando mudanças na proporção dos braços cromossômicos. Este tipo de inversão pode ser detectado em divisão somática (WHITE, 1973). As deleções e duplicações são eventos que estão relacionados com alterações cromossômicas estruturais.(WHITE, 1973).

Rearranjos, que aumentam ou diminuem o número de cromossomos pela fissão e fusão, são tipos especiais de translocações, em que os pontos quebrados ou unidos são próximos, respectivamente, dos centrômeros ou dos telômeros (WHITE, 1973). Nos himenópteros, estas alterações ocorrem num número significativo de espécies (IMAI et al., 1988a, b).

Há quatro possíveis tipos de inversões pericêntricas: AA, AM, MA, e MM. Nas

inversões AA, um cromossomo acrocêntrico se muda para outro acrocêntrico; nas inversões AM, um cromossomo acrocêntrico se muda para um metacêntrico; nas inversões MA, um cromossomo metacêntrico passa a ser um acrocêntrico e nas inversões MM, um metacêntrico se muda para outro metacêntrico (IMAI & MARUYAMA, 1978).

1.3. Teoria da Interação Mínima (TIM)

A evolução dos cariótipos pela Teoria da Interação Mínima foi proposta para explicar a evolução dos cromossomos em eucariotos, principalmente na ordem Hymenoptera, embasada na hipótese da fissão cêntrica (IMAI et al.1986; 1988a; 1994). Fundamentados em dados citogenéticos de mais de 500 espécies de formigas e outras famílias da ordem Hymenoptera, além de vegetais, peixes, anfíbios e mamíferos, IMAI (1991); IMAI et al. (1986, 1988a, 1994, 2001) desenvolveram esta teoria, que discute o processo das variações cromossômicas e evidencia a participação dos rearranjos na evolução dos cariótipos.

A TIM sugere que os cromossomos tendem a diminuir seu tamanho e conseqüentemente, aumentar seu número por meio de fissões, impedindo assim que ocorram interações físicas entre eles, uma vez que isto leva à diminuição de mutações como as translocações recíprocas, consideradas deletérias para os organismos eucariotos. A TIM prevê também que outros rearranjos podem acontecer tais como as fusões e as inversões pericêntricas do tipo AM que explicam a ocorrência de cromossomos do tipo M em cariótipos com $n > 12$ (IMAI & MARUYAMA, 1978; IMAI et al 2001).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta dos ninhos

Foram coletados ninhos em diferentes localidades do estado da Bahia, incluindo áreas diversas como da Mata Atlântica e áreas de transição Cerrado-Caatinga com uma distância que variou de 50 a 120 km de uma cidade a outra. As localidades de coleta foram; Coaraci - BA ($14^{\circ} 38' 27''$ S, $39^{\circ} 33' 03''$ O), Ilhéus - BA ($14^{\circ} 47' 20''$ S, $39^{\circ} 02' 56''$ O), Itagi - BA ($14^{\circ} 09' 46''$ S, $40^{\circ} 00' 21''$ O), Ituberá - BA ($13^{\circ} 43' 55''$ S, $39^{\circ} 8' 56''$ O), e Una - BA ($15^{\circ} 17' 34''$ S, $39^{\circ} 04' 30''$ O) (Figura 1). Exemplares adultos coletadas nos ninhos foram identificadas pelo Dr Anthony Raw e posteriormente depositadas na coleção entomológica da UESC.

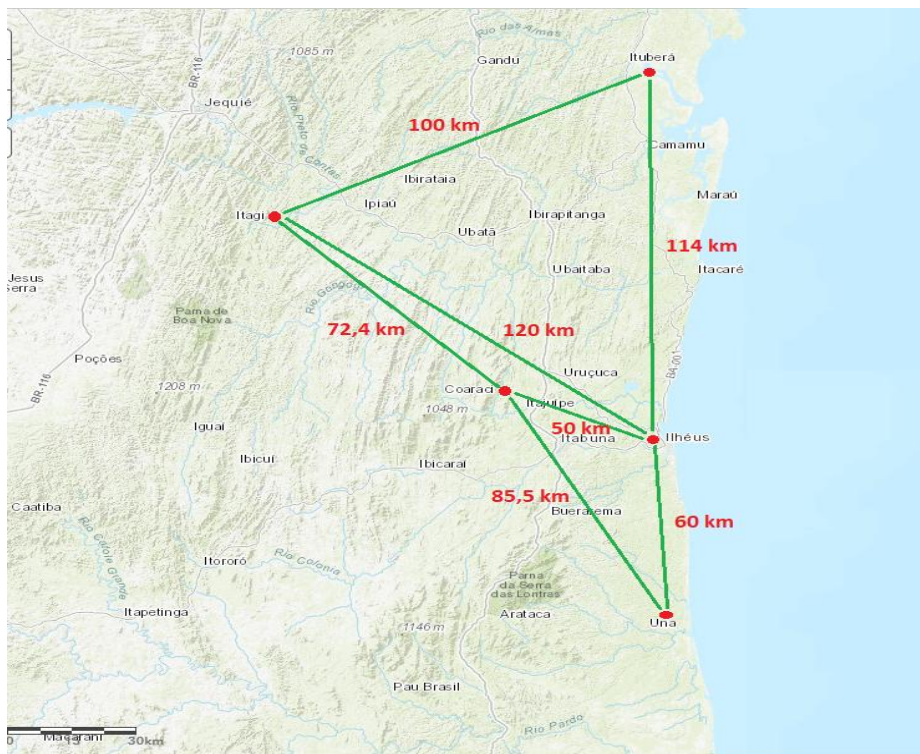


Figura 1. Mapa de distribuição dos pontos de coleta, com distância aproximada entre as cidades amostradas

2.2 Preparação e análise das lâminas

Nas análises citogenéticas o gânglio cerebral de larvas na fase de pré-pupa foram utilizados na preparação das lâminas. Os gânglios foram retirados por meio da dissecação das larvas e as lâminas, para obtenção de cromossomos metafásicos, foram feitas seguindo o protocolo descrito por Imai et al. (1988). Amostras de vespas adultas foram também coletadas para identificação depois de montadas em alfinetes entomológicos e depositados na coleção entomológica da Universidade Estadual de Santa Cruz.

As lâminas preparadas foram submetidas à coloração convencional com Giemsa na proporção de 1:30 em tampão Sörensen, pH 6.8) para análise do número e da morfologia dos cromossomos metafásicos. A captura das imagens das metáfases foi feita em um fotomicroscópio Olympus CX-41, acoplado com câmera fotográfica digital. A coloração com fluorocromos base-específicos (cromomicina A3 (CMA₃) e 4,6-diamidino-2-phenylindole DAPI) para marcação das bandas e segmentos cromossômicos rico em pares de base GC e AT, respectivamente foi realizada de acordo com Schweizer (1976) com pequenas modificações de Guerra e Souza (2002) e as imagens foram capturadas em um microscópio de epifluorescência Olympus BX51 utilizando-se o *software* Image Pro plus v. 6.3.

As metáfases obtidas foram analisadas sendo as melhores, selecionadas para montagem dos kariogramas. Os kariogramas foram organizados com uso do software Adobe Photoshop CS5 e a nomenclatura cromossômica utilizada foi a proposta por Levan et al. (1964).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas vinte e uma colônias, destas, doze foram amostradas para análise citogenética, e nas demais não foi encontrado o material biológico necessário para obtenção de dados citogenéticos. As espécies coletadas durante as amostragens estão sumarizadas na tabela 1 e os kariogramas foram organizados na Figura 2.

Foi observada uma variação de $n = 5$ a $n = 29$ cromossomos no gênero *Polybia* coletados em regiões diferentes. Houve também variação no número cromossômico em amostras de uma mesma espécie oriundas de localidades diferentes. *Polybia (Hypopolybia) quadricincta* apresentou número cromossômico $2n = 30$ ($2K = 26M + 4SM$) (Figura 2A). Na coloração por fluorocromos, CMA₃/DAPI esta espécie apresentou marcações em blocos ricos em G-C nos pares 1, 4, 5, 10, 12 e 13 (Figura 3A). Diferentemente desse padrão nas regiões pericentroméricas nos demais cromossomos, o primeiro par chamou a atenção por apresentar marcação distribuída em três blocos. Este padrão, observado apenas nesse par, pôde ser observado em outras três espécies (Figura 4), tal característica compartilhada pode representar um marcador citológico que sugere relação filogenética, sendo útil para separar *P. quadricincta*, *P. occidentalis* e *Polybia sp6* das demais dentro do grupo.

A amostra de *P. (Apopolybia) jurinei* apresentou apenas cinco pares de cromossomos cuja fórmula cariotípica é $2n = 10$ ($2K = 8M + 2SM$) (Figura 2B); destaca-se entre eles o par 5 com tamanho bastante reduzido quando comparado aos demais. Menezes et al. (2014) analisou amostra dessa mesma espécie de Manaus, AM e encontrou diferente fórmula cariotípica $2n = 10$ ($K = 5SM$) (Tabela 1). Até o presente estudo, não havia dados citogenéticos com essa espécie para a ocorrência na Mata Atlântica. Nos resultados obtidos pela coloração por fluorocromo, em *P. jurinei* mostrou apenas dois pares com marcações de CMA₃⁺. O primeiro par foi marcado na região pericentromérica e o último par se mostrou inteiramente marcado com CMA₃⁺, evidenciando uma distribuição dominante e contínua da heterocromatina ricas em G-C. Essas duas características parecem ser predominantes na espécie, uma vez que, Menezes et al. (2014) também encontraram o mesmo padrão em suas amostras de Manaus-AM, (Figura 3B).

Os resultados encontrados para *P. (Myrapetra) occidentalis* foram $2n = 44$ ($2K = 12M + 10 SM$) tanto para as amostras de Itagi, BA, zona de transição Cerrado–Caatinga, quanto para a amostra de Ilhéus, BA, Mata Atlântica (Figura 2C, D, E). Esses dados são divergentes quanto ao número cromossômico da mesma espécie e região, encontrado por Menezes et al. (2014) que observou $2n = 34$ ($2K = 9M + 6SM + 2A$) (Tabela 1). Pompolo and Takahashi (1990) também descreveram os dados citogenéticos para *Polybia occidentalis* com $2n = 34$, entretanto pontuou a dificuldade de descrição da espécie, que foi coletada na região Sudeste do Brasil. Com a técnica de colocação por fluorocromos, pode-se perceber que *P. occidentalis* apresentou uma predominância de blocos CMA_3^+ em regiões próximas ao centrômero, principalmente nos cromossomos maiores, porém houve também alguns pares menores que apresentaram marcações com CMA_3^+ em regiões terminais em apenas um dos braços, o braço superior (Figura 3C).

Por ser o maior subgênero de *Polybia*, *Myrapetra* é um grupo problemático quanto à classificação, já que inclui muitas espécies que se separam apenas pela variação da coloração (Richards, 1978). O grupo *Polybia occidentalis*, que engloba 12 espécies, é um exemplo dessa problemática, pois as espécies e subespécies são definidas pela coloração amarela em diferentes partes do corpo (Richards, 1978), o que muitas vezes pode não justificar a separação entre elas. Existe ainda variação dentro do subgênero na pilosidade do olho com dois estados (ausência e presença de pelos) e carena pronotal dorsal (presente ou ausente) (Carpenter et al., 2001).

As espécies referentes à figura 2F, G, H, I, J, K, foram identificadas até subgênero *P. (Myrapetra)*. A pouca disponibilidade de dados taxonômicos morfológicos na literatura torna a identificação complexa e incerta, com muitas espécies sendo diferenciadas pela pilosidade dos olhos que costumam se perder na conservação com álcool. Características como cores e listras são também fáceis de perder com o tempo. Assim, chamaremos aqui, *P. (Myrapetra)* sp1, sp2, sp3, sp4, sp5 e sp6, respectivamente.

P. (Myrapetra) sp1, sp2, sp4, sp5 e sp6 apresentaram cariótipo simétrico, com $2n = 34$. Essas morfoespécies tiveram sua separação taxonômica pelo especialista pela diferença de coloração, tamanho e estruturas das peças bucais. A descrição da fórmula cariotípica foi comprometida pela dificuldade de identificação do centrômero na maioria dos cromossomos, isso se dá pelo diminuto tamanho cromossômico e sua forma condensada (Figura 2). *P.*

(*Myrapetra*) sp3 se destacou com o primeiro par homólogo se diferenciando pelo seu tamanho maior dos demais (Figura 2H e 4F). Quando corado com a técnica de fluorocromo, o par 1 se apresentou também diferente dos demais, com um bloco CMA₃⁺, não foi observado nos demais pares. Com o uso de outras ferramentas citogenéticas, tais como microdissecção cromossômica e FISH, será possível estudar a origem dessa discrepância. A preparação de sondas a partir da microdissecção destes cromossomos e sua hibridização nas espécies próximas pode revelar a sintenia nos cariótipos e permitir inferências sobre sua origem e evolução nestas vespas.

A última espécie analisada, chamada aqui de *Polybia* sp7 apresentou um cariótipo diferente aos demais, 2n=60. Esforços para sua identificação não foram o suficiente para poder chegar ao nível de espécie. Dentro do gênero, até o presente, nenhuma outra espécie de *Polybia* apresentou esse número de cromossomos.

Para as espécies sp4, sp5 e sp7, não foi possível obter os dados de fluorocromo, uma vez que o material biológico obtido nos ninhos não foi suficiente. Em muitos ninhos antigos ou novos demais apresentam um número reduzido de indivíduos na fase prepupa, considerada ideal para a aplicação das técnicas de citogenética. Assim, para uma colônia com poucos indivíduos, é priorizado o uso da técnica de coloração convencional com Giemsa na proporção de 1:30 em tampão Sörensen, pH 6.8).

Levando-se em consideração a diferença nos números cromossômicos observados no presente estudo e demais espécies citadas na literatura, os resultados demonstraram uma variação significativa de n=5 a n=29 cromossomos em *Polybia*, tornando, até o momento, improvável a determinação de um número cromossômico característico do grupo. Isso pode ser notado também em vários grupos de Himenoptera e em diferentes níveis taxonômicos, como famílias, subfamílias, gêneros, e outros (Imai et al., 1988; Rocha et al., 2002; Gokhman e Toxmah, 2004; Gebiola, 2012). Existem algumas teorias para explicar a evolução do cariótipo em grupos animais, dentre estas, a teoria modal de Matthey (1973). Apesar de ter sido proposta originalmente para explicar a evolução do cariótipo em mamíferos, tem sido utilizada em outros grupos. Essa teoria propõe que o número cromossômico mais comum entre os representantes de um táxon representaria o número básico daquele grupo. Variações nesse padrão seriam resultantes de rearranjos cromossômicos estruturais, especialmente

inversões, fusões e fissões que originariam valores haploides tanto acima quanto abaixo do número cromossômico mais comum.

Com base na descrição da heterocromatina, surgiram teorias para explicar a evolução do cariótipo em Himenóptera, a exemplo da Teoria da Interação Mínima proposta por Imai et al. (1988). Esta teoria foi elaborada utilizando como modelo dados de diferentes grupos e afirma que os cariótipos podem evoluir no sentido de minimizar os riscos genéticos resultantes das mutações cromossômicas deletérias, tais como as translocações recíprocas, as quais são mais frequentes em cariótipos com números baixos de cromossomos e cromossomos grandes do que naqueles com números elevados de pequenos cromossomos (Imai et al., 1988).

A evolução promoveria nos cariótipos um aumento do número de cromossomos por meio de fissões cêntricas, visando reduzir a possibilidade de interações cromossômicas (Imai et al., 1988). Como resultado, teríamos o surgimento de cromossomos telocêntricos instáveis que poderia eventualmente se associar com outros cromossomos, e assim dar origem a problemas de não disjunção e formação de pontes cromossômicas, produzindo cariótipos não balanceados. Entretanto, a estabilidade telomérica tenderia a ser rapidamente restabelecida, a partir da adição de heterocromatina constitutiva na região terminal, originando o tipo cromossômico pseudoacrocentrico que seria um cromossomo de acordo com a nomenclatura de Imai (1991) apresentaria um dos braços totalmente heterocromático

Considerando-se a subfamília Polistinae, a ocorrência de cariótipos com número elevado de cromossomos de tamanho reduzido com maioria do tipo metacêntrico e submetacêntrico pode ser explicada pela Teoria da Interação Mínima de Imai et al. (1988). Adicionalmente, a baixa frequência nos cariótipos de cromossomos do tipo acrocêntrico e telocêntrico poderia representar estágios intermediários da evolução cariotípica dos táxons nos quais estes tipos cromossômicos estão presentes. Contudo, para se confirmar tal suposição, são necessários estudos adicionais sobre os padrões de distribuição da heterocromatina constitutiva nas espécies analisadas neste trabalho.

Tabela 1. Número cromossômico descrito para espécies do gênero *Polybia*.

GÊNERO / ESPÉCIE	n	2n	FÓRMULA CARIOTÍPICA	LOCALIDADE	REFERÊNCIA
<i>Polybia sp1</i>	16		Indisponível	São Paulo, Brasil	Pompolo and Takahashi (1990)
<i>Polybia sp2</i>		34	Indisponível	São Paulo, Brasil	Pompolo and Takahashi (1990a)
<i>Polybia sp1</i>		34	(2K = 12M + 3 SM + 2 A)	Una, Bahia, Brasil.	Presente estudo
<i>Polybia sp2</i>		34	(2K = 16M + 1 SM)	Coaraci, Bahia, Brasil	Presente estudo
<i>Polybia sp3</i>		34	(2K = 15M + 2 SM)	Ilhéus, Bahia, Brasil	Presente estudo
<i>Polybia sp4</i>		34	(2K = 13M + 4 SM)	Itagi, Bahia, Brasil	Presente estudo
<i>Polybia sp5</i>	17		(K = 12M + 5 SM)	Itubera, Bahia, Brasil	Presente estudo
<i>Polybia sp6</i>		34	(2K = 16M + 1 SM)	Ilhéus, Bahia, Brasil	Presente estudo
<i>Polybia sp7</i>		60	Indisponível	Itagi, Bahia, Brasil	Presente estudo
<i>Polybia occidentalis</i>		34	Indisponível	São Paulo, Brasil	Pompolo and Takahashi (1990)
				Ilhéus, Bahia, Brasil	Menezes et al. (2014)
<i>Polybia occidentalis</i>		44	(2K = 12M + 10 SM)	Itagi, Bahia, Brasil	Presente estudo
<i>Polybia occidentalis</i>		44	Indisponível	Jequié, Bahia, Brasil	Trindade (2012)

<i>Polybia paulista</i>	17	34	Indisponível	Indisponível	Pompolo and Takahashi (1987)
<i>Polybia scutellaris</i>		34	Indisponível	Indisponível	Pompolo and Takahashi (1987)
<i>Polybia chrysothorax</i>		58	Indisponível	Indisponível	Trindade (2012)
<i>Polybia catillifex</i>		40	Indisponível	Indisponível	Trindade (2012)
<i>Polybia quadricincta</i>		30	(2K = 13M + 2SM)	Ilhéus, Bahia, Brasil	Presente estudo
<i>Polybia rejecta</i>		30	Indisponível	Indisponível	Menezes et al. (2014)
<i>Polybia jurinei</i>		10	(2K = 5M)	Manaus, Amazonas, Brazil	Menezes et al. (2014);
			(2K = 4M + 1SM)	Coaraci, Bahia, Brasil	Presente estudo
<i>Polybia sericea</i>	27		Indisponível	Indisponível	Pompolo and Takahashi (1990)

<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15</p> <p>_____ A</p>	<p>1 2 3 4 5</p> <p>_____ B</p>
<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22</p> <p>_____ C</p>	<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22</p> <p>_____ D</p>
<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22</p> <p>_____ E</p>	<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17</p> <p>_____ F</p>
<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17</p> <p>_____ G</p>	<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17</p> <p>_____ H</p>
<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17</p> <p>_____ I</p>	<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17</p> <p>_____ J</p>
<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17</p> <p>_____ K</p>	<p>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30</p> <p>_____ L</p>

Figura 2. **A** – *Polybia (Hypopolybia) quadricincta* - Ilhéus, Ba. **B** - *Polybia (Apopolybia) jurinei* - Coaraci, BA. **C** - *Polybia (Myrapetra) occidentalis* - Itagí, BA. **D** - *Polybia (Myrapetra) occidentalis* - Ilhéus, BA. **E** - *Polybia (Myrapetra) sp1.* - Una, BA. **F** - *Polybia (Myrapetra) sp2.* - Coaraci, BA. **H** *Polybia (Myrapetra) sp3.* - Ilhéus, BA. **I** *Polybia (Myrapetra) sp4* - Itagí, BA. **J** *Polybia (Myrapetra) sp5.* Itubera, BA. **K**- *Polybia (Myrapetra) sp6.* - Ilhéus, BA. **L**- *Polybia (Myrapetra) sp7.* - Itagí, BA. Barra 10 mm.

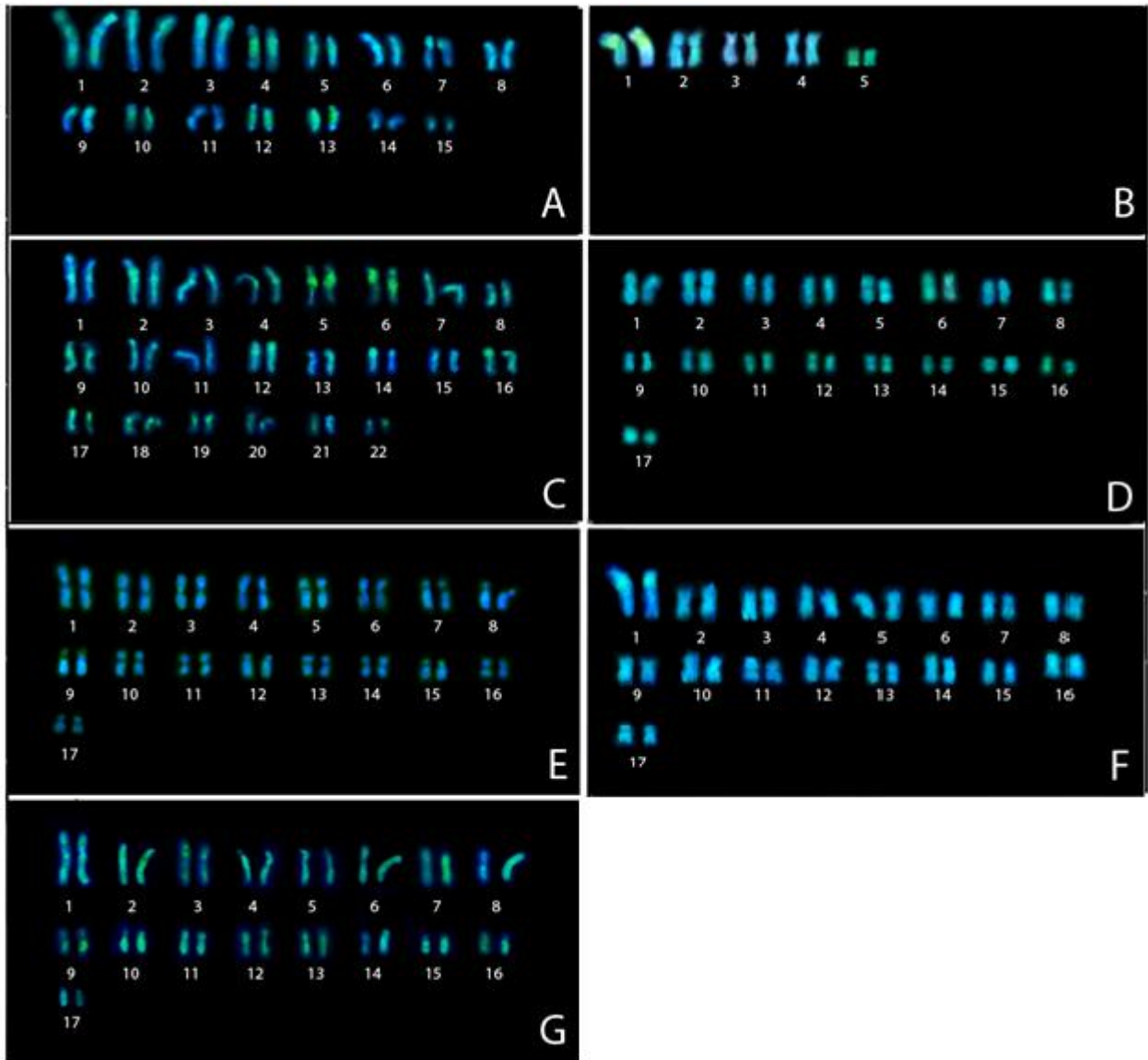


Figura 3. Prancha com cariótipos corados com fluorocromos base-específicos DAPI e CMA3. . **A** – *Polybia (Hypopolybia) quadricincta* - Ilhéus, Ba. **B** - *Polybia (Apopolybia) jurinei* - Coaraci, BA. **C** - *Polybia (Myrapetra) occidentalis* - Itagí, BA. **D** - *Polybia (Myrapetra) sp1.* - Una, BA. **E** - *Polybia (Myrapetra) sp2* - Coaraci, BA. **F** - *Polybia (Myrapetra) sp3.* - Ilhéus, BA - **G** - *Polybia (Myrapetra) sp6.* - Ilhéus, BA. Barra 10 mm.

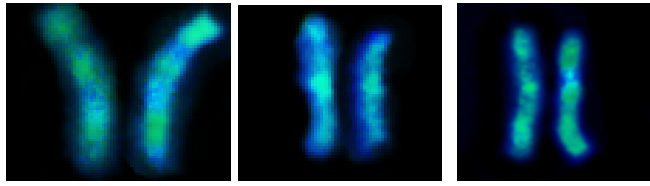


Figura 4. Primeiro par de cromossomos de **A.** *P. quadricincta*,
B. *P. occidentalis* e **C.** *Polybia sp6* respectivamente.

Menezes et al. (2014) propuseram um padrão de diminuição do número cromossômico de acordo com a evolução das espécies dentro da tribo Epiponini. Comparando os dados da Tabela 1 e cladograma simplificado obtido por Carpenter *et al.* (2000), é possível inferir que o padrão de diminuição cromossômica atribuído à tribo Epiponini é encontrado também dentro do gênero *Polybia*. Por exemplo, o subgênero *Trichinothorax* (*P. sericea*, $2n = 54$) é considerado basal em relação ao subgêneros *Hypopolybia* (*P. quadricincta*, $2n = 30$) e *Apopolybia* (*P. jurinei*, $2n = 10$), que foram estabelecidos como derivado (Carpenter et al., 2000). Por isso, gêneros basais tendem a apresentar um número cromossomo mais elevado ($n = 26-33$) e os derivados ter números menores ($n = 5-21$) (Menezes et al, 2014).

Segundo Menezes et al. (2014), a diminuição do número de cromossomos dentro de Epiponini parece ser seguida por uma redução no número de acrocêntricos. Isto sugere que fusões entre cromossomos podem ter sido a causa primária das mudanças cromossômicas dentro do grupo. A hipótese proposta por Menezes et al. (2014) de diminuição gradual do número de cromossomos em Epiponini é diferente do que diz a teoria da interação mínima proposta por Imai et al. (1988, 1994), que propõe o aumento do número de cromossomos como uma tendência evolutiva em animais, mas deixa claro que isso pode ocorrer no sentido oposto em alguns grupos. Diversos estudos citogenéticos em Hymenoptera fazem uso dessa teoria proposta por Imai et al. (1994) para explicar variações cromossômicas (Hoshiba et al, 1989; Gomes et al, 1995; Rocha et al., 2003; Santos et al., 2009). Porém, Gokhman (2006) sugere que a evolução cariotípica de vespas parasitoides resultou da diminuição do número cromossômico, devido às fusões cromossômicas.

Os dados citogenéticos apresentados aqui são importantes para caracterizar e diferenciar os complexos de espécies, uma vez que, foram descritos cariótipos diferentes no em *P. Myrapetra occidentalis*. Nesse aspecto, a citogenética pode ser importante ferramenta,

auxiliando na compreensão dos polimorfismos deste grupo de vespas sociais, principalmente quanto à definição de subgêneros, subespécies e a detecção de complexos de espécies crípticas, o que acreditamos ser o caso para essa espécie.

É possível que em diferentes grupos tenham ocorrido diversos processos de evolução cromossômica. Assim, fusão e não fissão pode ser o principal mecanismo cromossômico envolvida na evolução cromossômica das vespas Epiponini, mais especificamente em *Polybia*. Além disso, o gênero estudado apresentou um considerado padrão de repetição de número cromossômico $2n=34$, com variações em grupos basais com número maior de cromossomos.

Com os dados com uso da técnica de fluorocromos foi possível concluir que existe um padrão de regiões cma_3^+ para cada espécie, além de um marcador citogenético encontrado apenas em *P. quadricincta*, *P. occidentalis* e *P. sp6*.

4 REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, S.M.S.R., Pompolo, S. G., Dergam, J. A. S. & Campos, L. A. O. (2000) The B system of *Trypoxylon* (*Trypargilum*) *albitarse* (Hymenoptera: Sphecidae). *Cytobios*, 101:7-13.
- BAKER, W.K., MARCEY, D.J., MCELWAIN, M.C. (1985). On the development of ectopic eyes in *Drosophila melanogaster* produced by the mutation extra eye (*ee*). *Genetics* **111**: 67--88.
- BRITO, R.M. (1998). Caracterização citogenética de duas espécies do gênero *Partamona* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae). Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal de Viçosa.
- BRITO, R.M., Costa, M.A. & Pompolo., S.G. (1997) Characterization and distribution of supernumerary chromosomes in 23 colonies of *Partamona helleri* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) Brazil J. Genet., 20: 185-188.
- BRITO-RIBON, R.M., MIYAZAWA, C.S.& POMPOLO, S. G. (1999) First karyotype characterization of four species of *Partamona* (Friese,1980) (Hymenoptera) in Mato Grosso state, Brasil. *Cytobios*, 100:19-26.
- CARPENTER, J.M. & MARQUES, O.M. 2001. Contribuição ao estudo dos vespídeos sociais do Brasil (Insecta, Hymenoptera, Vespoidea, Vespidae) [CD ROM]. Cruz das Almas –BA, Brasil. Universidade Federal da Bahia, Escola de Agronomia, Departamento de Fitotecnia /Mestrado em Ciências Agrárias, Série Publicações Digitais, 2.
- CARPENTER, J. M., KOJIMA, J., WENZEL, J. W. 2000. *Polybia*, paraphyly and Polistinae phylogeny. *American Museum Novitates*, n. 3298, p. 1-24, 2000.
- CARPENTER, J. M. 1991. Phylogenetic relationships and the origin of social behavior in the Vespidae. In K.G. Ross & R.W. Matthews (editors), *The social biology of wasps*: 7–32. Ithaca, NY: Cornell University Press.
- CARPENTER, J. M. and J. W. Wenzel. “1989” [1990 & rsqb. Synonymy of the genera *Protopolybia* and *Pseudochartergus* (Hymenoptera: Vespidae; Polistinae). *Psyche* 96:177–186

CAIXEIRO, A.P.A. (1999). Caracterização citogenética da heterocromatina constitutiva e sua implicação na evolução do cariótipo de espécies do gênero *Plebeia* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal de Viçosa.

CROSLAND, M.W.J., Crozier, R.H. (1986) *Myrmecia pilosula*, an ant with only one pair of chromosome. *Science*, 231:1278.

GEBIOLA, M.; GIORGINI, M.; NAVONE P. & BERNARDO, U. 2012. A karyological study of the genus *Pnigalio* Schrank (Hymenoptera: Eulophidae): Assessing the taxonomic utility of at the species level. *Bulletin of Entomological Research*. vol. 102, p.43–50.

GOKHMAN, VE. & QUICKE, DLJ. 1995. The last twenty years of parasitic Hymenoptera karyology: an update and phylogenetic implications. *Journal of Hymenoptera Research*. vol. 4, p. 41–63.

GOKHMAN, VE. & TOXMAH, BE. 2004. Karyotypes of parasitic wasps of the family Eulophidae (Hymenoptera): new data and review. *Russian Entomological Journal*, vol. 13, no. 3, p. 171–174.

GOKHMAN, VE. 2009. *Karyotypes of Parasitic Hymenoptera*. Russia: Springer. 183 p

GOMES, LF. 1995. Estudos citogenéticos em vespas do gênero *Trypoxylon* (Hymenoptera, Sphecidae, Larrinae, Trypoxylonini). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. Dissertação de Mestrado. 80 p.

GREENBAUM, I.F., R.J. Baker, and P.R. Ramsey. 1978. Chromosomal evolution and the

mode of speciation in three species of *Peromyscus*. *Evolution* 32:646-654.

GUERRA, M.; SOUSA, M.J. 2002. Como observar cromossomos– Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC. 191p.

HOSHIBA, H. Karyological analysis of a stingless bee, *Melipona favosa* (Apidae, Hymenoptera). *Cytologia*, v. 53, p. 153-156, 1988.

HOSHIBA, H.; MATSUURA, M. & IMAI, HT. 1989. Karyotype evolution in the social wasps (Hymenoptera, Vespidae). *Japanese Journal of Genetics.*, vol. 64, p. 209-222.

IMAI HT, CROSLAND MWJ & CROZIER RH (1988) Modes of spontaneous chromosome mutation and karyotype evolution in ants with reference to the minimum interaction hypothesis. *Jpn J Genet* 63:113–125

IMAI HT, TAYLOR RW & CROZIER RH (1994) Experimental bases for the minimum interaction theory: I Chromosome evolution in ants of *Myrmecia pilosula* species complex (Hymenoptera: Formicidae: Myrmeciinae). *Jpn J Genet* 69:137–181.

JEANNE, R.L. 1991. The swarm-founding Polistinae. In: ROSS, K.G., MATTHEWS, R.W. (eds.) *The Social Biology of wasps*. Itaca: Cornell University Press.

KERR, W.E. Estudos sobre o gênero *Melipona*. *Anais da Escola de Agricultura "Luiz Queiroz"*, v. 5, n. 6, p. 181-276, 1948.

KERR, W.E. A variação do número de cromossomas na evolução dos himenópteros. *Scientia Genetica*, v. 3, n. 4, p. 182-199, 1952.

KERR, W.E. Some aspects of the evolution of the social bees. *Evolution Biology*, v. 3, p. 119-175, 1969.

KERR, W.E. Numbers of chromosomes in some species of bees. *Journal of the Kansas Entomological Society*, v. 45, p. 11-122, 1972.

KERR, W.E.; PISANI, J.F.; ALLY, D. Aplicação de princípios modernos à sistemática do gênero *Melipona* Illiger, com a divisão em dois subgêneros (Hymenoptera, Apoidea). *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 20, p. 135-145, 1967.

KOJIMA, J. 1998. Larvae of social wasps (Insecta: Hymenoptera; Vespidae). *Nat. Hist. Bull. Ibaraki Univ.* 2:7-227.

MAMPUMBU, A.R. (2002) Análise citogenética da heterocromatina e da nor em populações de abelhas sem ferrão *Friesella schrottkyi* (Fries, 1900) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural na área de Biologia Celular), Universidade Estadual de Campinas.

MARQUES, O.M. 1989. *Vespas Sociais (Hymenoptera-Vespidae) em Cruz das Almas – Bahia: Levantamento, hábitos de nidificação e alimentares.* Cruz das Almas – BA: Escola de Agronomia/UFBA. xiii + 67p. (Dissertação – Mestrado).

MATTHEY R. The chromosome formulae of eutherian mammals. In: Chiarelli AB Capanna E, editors. *Cytotaxonomy and vertebrate evolution.* London & New York: Academic Press; 1973. p. 531-615.

MENEZES, M.B.F. (1997) Caracterização citogenética e análise da heterocromatina constitutiva em *Tetragonisca angustula angustula* (Hymenoptera, Meliponinae). Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal de Viçosa.

MENEZES et al. 2014 Evolutionary trends in the chromosome numbers of swarm-founding social wasps *Insectes Sociaux* (Printed ed.), v. 1, p. 1, 2014.

MOREIRA, C.M.L.C. (1997) Caracterização cariotípica de três espécies do gênero *Friesomelita* (Hymenoptera, Meliponinae). *Rev. Brasil. Genet.*, 18: 181-184.

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

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

NOLL, F.B. & WENZEL, J.W. 2008. Caste in the swarming wasps: 'queenless' societies in highly social insects. *Biological Journal of the Linnean Society*, 93, 509–522

OWEN, RE.; RICHARDS, KW. & WILKES, A. 1995. Chromosome numbers and Kariotypic Variation in Bumble Bees (Hymenoptera: Apidae, Bombini). *Journal of the Kansas Entomological Society*. vol.68, no.3, p. 290-302.

PASCOE, P & J PATTON, S & CRITCHER, R & DIXON, DAVID. (1996). Pascoe, PL, Patton, SJ, Critcher, R, Dixon, DR. Robertsonian polymorphism in the marine gastropod *Nucella lapillus*: advances in karyology using rDNA loci and NORs. *Chromosoma*, 104: 455-460. *Chromosoma*. 104. 455-60. 10.1007/s004120050137.

PIECZARKA, J.C.; MATTEVI, M. Heterocromatina constitutiva. Ribeirão Preto, SP: Sociedade Brasileira de Genética, 1998. p.197-208, (Série monografias, 7).

PIECZARKA, J.C.; NAGAMACHI, C.Y.; MUNIZ, J.A.P.C.; BARROS, R.M.S. Analysis of constitutive heterochromatin of *Aotus* (Cebidae, Primates) by restriction enzyme and fluorochrome bands. *Chromosome Research*, v. 6, p. 77-83, 1998.

POMPOLO, S. G. ;TAKAHASHI, C. S.. Cytogenetics of brazilian Polybiini wasps (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae). *Revista Brasileira de Genética*, v. 10, p. 483-496, 1987.

POMPOLO, S. G. ;TAKAHASHI, C. S.. Karyotype of ten species of social wasps (Hymenoptera, Polistinae, Polybiini). *Revista Brasileira de Genética*, v. 13, p. 469-477, 1990.

POMPOLO, S.G. & CAMPOS, L.A.O. (1995) Karyotypes of two species of stingless bees, *Leurotrigona muelleri* and *Leurotrigona pusila* (Hymenoptera, Meliponinae). *Rev. brasil. Genet.*, 18: 181-184.

RICHARDS, O. W. 1978. The social wasps of the Americas (excluding the

Vespinae). London, British Museum (Natural History).

RICHARDS, O. W. e RICHARDS, M. J. 1951. Observations on the social wasps of South America (Hymenoptera, Vespidae). Trans. Entomol. Soc. London.

ROCHA, M.P. & POMPOLO, S.G. (1998) Karyotypes and heterocromatin variation (C-bands) in *Melipona* species (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) Genet. Mol. Biol., 21: 41-45.

ROCHA, M.P. (2002). Análises citogenéticas em abelhas do gênero *Melipona* (Hymenoptera, Meliponinae). Dissertação (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural na área de Biologia Celular) Universidade Estadual de Campinas.

ROCHA MP, Pompolo SG, Dergam JA, Fernandes A, Campos LAO (2002) DNA characterization and karyotypic evolution in the bee genus *Melipona* (Hymenoptera, Meliponini). Hereditas 136:19–27

ROSS, K.G. & MATTHEWS, R.W., (1991) The social biology of wasps: Ithaca, NY: Cornell University Press. 678p.

SANTOS, GM de M.; BISPO, PC. & AGUIAR, CML. 2009. Fluctuations in richness and abundance of social wasps during the dry and wet seasons in three phyto-physiognomies at the tropical dry forest of Brazil. Environmental Entomology, vol. 38, no. 6, p. 1613-1617.

SCHER, R. (1996) Diversidade cariotípica em uma população de *Trypoxylon* (*Tripargilum*) *nitidum* (Hymenoptera, Sphecidae) do Parque Florestal Estadual do Rio Doce (MG). Viçosa, MG: UFV, Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal de Viçosa, 73.

SILVA, A.G.A et al (1968) . Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil – seus parasitos e predadores. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, Dept De Defesa e Inspeção Agropecuária pt2, t1.

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

WENZEL, J. W. 1993. Application of biogenetic law to behavioral ontogeny: a test using nest architecture in paper wasps. Journal of Evolutionary Biology 6:229-247.

WEST-EBERHARD, M. J., CARPENTER, J. M., HANSON, P. 1995. The Vespidae wasps (Vespidae). *In* P. Hanson and I. Guald (eds.), *The Hymenoptera of Costa Rica*: 561 – 587. London: The Natural History Museum.

WILSON EO (1971) *The insect societies*. Harvard University Press, Cambridge, MA 548pp.

VERMA, R.S.; BABU, A. *Human chromosomes. Principles and Techniques*. New York: Mc Graw Hill Inc, 1995. 419 p.