

**POLYANA AMARAL MOREIRA**

**MORFOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO E ASPECTOS  
DO COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE *Trypoxylon (Trypargilum)*  
(HYMENOPTERA: CRABRONIDAE)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2007**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M838m  
2007

Moreira, Polyana Amaral, 1983-  
Morfologia do sistema reprodutor masculino e aspectos  
do comportamento reprodutivo de *Trypoxylon*  
(*Trypargilum*) (Hymenoptera : Crabronidae) / Polyana  
Amaral Moreira. – Viçosa, MG, 2007.  
vii, 39f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: José Lino Neto.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. *Trypoxylon* - Comportamento. 2. *Trypoxylon* -  
Morfologia. 3. Inseto - Comportamento. I. Universidade  
Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 595.791562

**POLYANA AMARAL MOREIRA**

**MORFOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO E ASPECTOS  
DO COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE *Trypoxylon (Trypargilum)*  
(HYMENOPTERA: CRABRONIDAE)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de julho de 2007.

---

Prof. Lúcio Antonio O. Campos  
(Co-Orientador)

---

Prof. Clóvis Andrade das Neves

---

Prof. José Eduardo Serrão

---

Dra. Riviane Rodrigues da Hora

---

Prof. José Lino Neto  
(Orientador)

À minha família e ao Edmar,  
por todo carinho e dedicação.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa pela estrutura fornecida, desde o espaço físico, aos funcionários atenciosos e professores capacitados que me transmitiram grandes ensinamentos.

À CAPES pela bolsa.

Ao professor José Lino Neto, pela orientação e aos professores Lúcio Antonio de Oliveira Campos e Mara Garcia Tavares pela co-orientação.

Ao Dr. Rui C. Peruquetti.

A todos os funcionários que sempre estiveram dispostos a me ajudar, em especial Alex, da histologia e Lulu, Cabrito e Íris, do Apiário.

À Dona Paula e à Mirian, secretárias da Entomologia.

Aos colegas de trabalho, em especial Jane e Lílian, companheiras sempre presentes e Andréia, por toda a boa vontade e ajuda.

Ao meu grande amigo Vinícius, pelo grande incentivo e inúmeras colaborações. Sem sua ajuda eu não teria chegado aqui.

Ao Edmar, meu companheiro de todas as horas, que sempre me apoiou e me ajudou nessa caminhada.

À minha família, meu maior apoio, mesmo distante. À minha amada mãe, por todo o carinho e incentivo nos momentos bons e nos difíceis. Ao meu pai, pela força e por acreditar em mim. À minha irmã Vanessa, por “puxar minha orelha” e me fazer ir em frente. À minha irmã Viviane por todo o carinho e amor. Aos meus tios, Gracinha e Getúlio, por estarem presentes em todos os momentos.

Aos meus amigos e amigas, de perto e de longe, que me incentivaram a continuar.

## **BIOGRAFIA**

Polyana Amaral Moreira, filha de Francisco Aldeir Moreira e Maria de Fatima Amaral Moreira, nasceu em Castelo, Espírito Santo, em 09 de outubro de 1983.

Concluiu o Ensino Médio em dezembro de 2000 no Colégio Expoente de Castelo. Em abril de 2001 iniciou o curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal de Viçosa. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq do laboratório de Biologia Estrutural da UFV. Em 29 de julho de 2005 graduou-se Bacharela em Ciências Biológicas. No mês seguinte ingressou no curso de Mestrado em Entomologia, na Universidade Federal de Viçosa, defendendo a tese em julho de 2007.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2. ARTIGOS CIENTÍFICOS .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1. Moreira, P.A., V.A. Araújo, U. Zama &amp; J. Lino-Neto. 2007. Morfologia do Sistema Reprodutor Masculino em <i>Trypoxylon (Trypargilum)</i> Latreille (Hymenoptera: Crabronidae). (Submetido à Neotropical Entomology). .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2. Moreira, P.A., R.C. Peruquetti, L.A.O. Campos &amp; J. Lino-Neto. 2007. Comportamento reprodutivo de <i>Trypoxylon lactitarse</i> e de <i>Trypoxylon nitidum</i> e a questão da ocorrência de machos-guardas no subgênero <i>Trypargilum</i>. .....</b>	<b>26</b>
<b>3. CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>39</b>

## RESUMO

MOREIRA, Polyana Amaral, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2007. **Morfologia do sistema reprodutor masculino e aspectos do comportamento reprodutivo de *Trypoxylon (Trypargilum)* (Hymenoptera: Crabronidae)**. Orientador: José Lino Neto. Co-Orientadores: Lúcio Antonio de Oliveira Campos e Mara Garcia Tavares.

O aparelho reprodutor masculino de *Trypoxylon (Trypargilum)* apresenta o padrão básico para os Hymenoptera, mas com variações morfológicas capazes de caracterizar o subgênero. Ele é formado por dois testículos, dois ductos deferentes e um ducto ejaculatório. Em cada ducto deferente há uma região diferenciada em vesícula seminal e desemboca uma glândula acessória. Cada testículo possui três folículos, os quais apresentam células germinativas nas diferentes fases da espermatogênese, mesmo em machos sexualmente maduros. Os espermatozóides deixam os testículos em feixes de até 32 espermatozóides. Esses feixes são gradualmente desfeitos nas vesículas seminais. Estas apresentam uma dobra que parece funcionar como uma válvula, dosando os espermatozóides liberados em cada ejaculação. Em *T. lactitarse* ocorrem cópulas antes de cada oviposição, o que pode garantir ao macho guarda a paternidade da maior parte da progênie feminina daquele ninho, já que a espermateca da fêmea é praticamente vestigial e, assim, deve impossibilitar o armazenamento de espermatozóides. Diferentemente, em *T. nitidum* as cópulas são menos freqüentes e há espermatozóides na espermateca, apesar de em pequena quantidade. Isso sugere que pode haver diferenças nas estratégias reprodutivas entre essas duas espécies.

## ABSTRACT

MOREIRA, Polyana Amaral, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2007.

**Morphology of male reproductive system and aspects of the reproductive behavior of *Trypoxylon (Trypargilum)* (Hymenoptera: Crabronidae)** Adviser: José Lino Neto. Co-Advisers: Lúcio Antonio de Oliveira Campos and Mara Garcia Tavares.

Male reproductive tract of *Trypoxylon (Trypargilum)* has the basic pattern of Hymenoptera, with morphological variations that characterize the subgenus. It is formed by a pair of testicles, two deferent ducts and one ejaculatory duct. In each deferent duct there is an enlarged region, the seminal vesicle, with an accessory gland opening in the end of it. Each testicle has three follicles which have germ cells in all spermatogenesis stages, even in sexually matures individuals. Sperms are released from testicles in bundles with up to 32 cells. These bundles are gradually disorganized inside seminal vesicle, witch have a fold that we believe that play a role like a valve, dosing sperms released in each ejaculation. In *T. lactitarse*, mating occurs before each oviposition what can assure male paternity of most offspring in that nest, since spermatheca is practically vestigial in these females and then might disable sperm storage. Otherwise in *T. nitidum* mating is less common and there is sperm inside spermatheca, although it is a little amount. This suggests that there are differences in reproductive strategies between both species.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Hymenoptera é uma das cinco ordens de insetos com maior riqueza de espécies, inclui as vespas, abelhas e formigas. Com cerca de 115.000 espécies descritas e 300.000 estimadas é a segunda ordem em número de espécies, atrás apenas de Coleoptera (LaSalle & Gauld 1993). Também pode ser considerada a ordem com maior importância econômica entre os insetos, por possuir grande quantidade de espécies parasitas ou predadoras de insetos praga, os mais importantes polinizadores de plantas, as abelhas (Borror *et al.* 1992) e muitas pragas agrícolas, como as formigas cortadeiras e alguns Symphyta desfolhadores. Trata-se também de um grupo muito interessante em termos da biologia, por exibir grande diversidade de habitats e complexidade de comportamentos (Borror *et al.* 1992), interagindo de forma complexa com muitos outros organismos (Gauld & Bolton 1996).

Esta ordem é dividida nas subordens Symphyta e Apocrita (LaSalle & Gauld 1993). Esta última é subdividida em Parasitica e Aculeata. O grupo Aculeata é formado pelas superfamílias Chrysidoidea, Vespoidea e Apoidea (Gauld & Hanson 1995). Esse grupo se diferencia dos demais Hymenoptera por apresentar o ovipositor modificado, o qual não é usado para postura de ovos, mas para injetar veneno no hospedeiro ou na presa, ou possui função defensiva (Gauld & Bolton 1996).

Melo (1999) sugeriu, baseado em dados morfológicos e moleculares, uma nova classificação de Apoidea. Nessa nova classificação os Apoidea foram divididos em cinco famílias, sendo uma formada pelos Apiformes (Apidae) e outras três pelos Esfeciformes (Ampulicidae, Sphecidae e Crabronidae) e a família Heterogynaidae. Melo (1999) elevou a subfamília Crabroninae, à qual pertence o gênero *Trypoxylon* (Lomholdt 1985, Menke 1988), ao nível de família. Tal mudança fundamentou-se nos dados que indicaram a família Sphecidae (*sensu* Bohart & Menke 1976) como parafilética.

Os *Trypoxylon* pertencem à tribo Trypoxylini, que contém cinco gêneros e, de acordo com Bohart & Menke (1976), aproximadamente 570 espécies, das quais, cerca de 360 pertencem ao gênero *Trypoxylon*. Posteriormente, Hanson & Menke (1995) aumentaram a estimativa para cerca de 660 espécies nesse gênero. Essas espécies encontram-se divididas nos subgêneros *Trypoxylon* e *Trypargilum* (Richards 1934). O subgênero *Trypoxylon* ocorre em todo o mundo, enquanto o *Trypargilum* possui suas 96 espécies restritas ao Novo Mundo. Destas, estima-se que 86 sejam

Neotropicais, das quais 64 ocorrem apenas na América do Sul (Richards, 1934; Bohart & Menke 1976, Amarante 1991a, b, 1995). Segundo Richards (1934), as espécies de *Trypargilum* podem ser organizadas nos grupos *superbum*, *albitarse*, *punctulatum*, *nitidum* e *spinosum*. Entretanto, outros autores propuseram modificações dessa organização, por exemplo, a união dos grupos *punctulatum* e *spinosum* ao grupo *nitidum* (Bohart & Menke 1976).

O sistema reprodutor masculino em Hymenoptera, como nos insetos em geral, é formado tipicamente por um par de testículos conectados a um par de vesículas seminais e um par de ductos deferentes que se unem em um ducto ejaculatório. Na maioria dos insetos há também glândulas acessórias que desembocam no ducto deferente ou no ducto ejaculatório (Chapman 1998). Entretanto, existem muitas variações interespecíficas, inclusive dentro da ordem Hymenoptera.

Variações no tamanho ou número das estruturas, na ausência de alguma delas ou na posição das mesmas ao longo do trato reprodutivo, podem ocorrer. Há, por exemplo, variações no número de folículos por testículo, que geralmente variam de um a quatro, mas podem chegar a 200 como em *Apis mellifera*. Há ainda outras variações como no número de espermatozoides por cisto, no tempo de duração da maturação sexual e na presença e número de glândulas acessórias. Por exemplo, em *Polistes* (Vespidae) os testículos são separados das vesículas seminais por dois a três mm de distância (Dirks & Sternburg 1972), já em *Ancistrocerus antilope* (Vespidae) esses dois órgãos encontram-se unidos (Bushrow *et al.* 2006).

As variações na anatomia do sistema reprodutivo normalmente estão relacionadas ao comportamento reprodutivo. Machos que têm vida longa e copulam várias vezes ao longo dela, normalmente apresentam produção contínua de espermatozoides. (Heinze & Hölldobler 1993, Bushrow *et al.* 2006, Damiens & Boivin 2005). Já aqueles machos que copulam apenas durante um curto período, produzem espermatozoides apenas uma vez, com a espermatogênese iniciando-se na fase de pupa e completando-se imediatamente antes da emergência ou logo após (Boomsma *et al.* 2005). Nestes indivíduos, os testículos entram em processo de degeneração após os espermatozoides migrarem para as vesículas seminais (Ball & Vinson 1984, Cruz-Landim & Dallacqua 2002, Araújo *et al.* 2005).

As fêmeas de insetos possuem um sistema reprodutor constituído de um par de ovários, os quais se conectam a um par de ovidutos laterais. Estes se unem para

formar um oviduto mediano que se abre posteriormente em uma câmara genital. Desembocando na câmara genital encontra-se a espermateca, cuja função é armazenar espermatozóides (Chapmann 1998). Na espermateca os espermatozóides podem permanecer viáveis por longos períodos (Taber & Blum 1960, Neubaum & Wolfner 1999). Dessa forma, a fertilização pode ocorrer até vários anos após a cópula.

O ovo é fertilizado durante a sua passagem pela câmara genital, quando uma pequena quantidade de espermatozóides é liberada da espermateca. Em Hymenoptera, a fêmea possui claramente a capacidade de liberar ou não espermatozóides, de acordo com fatores ambientais (Chapmann 1998). Nessa ordem, os machos são haplóides, desenvolvendo-se a partir de ovos não-fertilizados, e as fêmeas, diplóides, desenvolvem-se de ovos fertilizados (Cruz-Landim 1984). Com isso, a fêmea pode determinar a razão sexual da prole, controlando, no momento da oviposição, a liberação ou não de espermatozóides armazenados na espermateca (Flanders 1965, Gerber & Klostermeyer 1970). Como apenas as fêmeas se desenvolvem a partir de ovos fertilizados, os machos são pais apenas da prole feminina. Dessa forma, o controle do sexo da prole, realizado pela fêmea, pode interferir no valor adaptativo do macho.

Em várias espécies de Hymenoptera a fêmea copula com mais de um macho, seja apenas durante um curto período, como *Apis* (Kerr *et al.* 1962), ou durante toda a vida, como *Trypoxylon* (Amarante 1991a, Brockmann 1992, Garcia & Adis 1995). A presença de espermatozóides de dois ou mais machos na espermateca pode levar à competição entre essas células pela fertilização dos óvulos (Parker 1970a). Entretanto, só ocorre realmente competição se houver uma sobreposição temporal e espacial dos ejaculados dos machos, de forma que os espermatozóides de machos diferentes fiquem misturados na espermateca, levando a uma utilização aleatória dos mesmos. Portanto, mesmo que a fêmea copule com vários machos, pode não haver competição entre os espermatozóides. Algumas fêmeas só copulam novamente quando já se esgotou o estoque de espermatozóides, o que minimiza a sobreposição. Em outras, os espermatozóides de machos diferentes podem ser depositados em diferentes regiões do aparelho reprodutor, ou então, aqueles de cópulas antigas podem ser eliminados da espermateca antes dos novos serem estocados (Simmons 2001).

Quando os espermatozoides de dois ou mais machos são depositados na espermateca, mas são utilizados de maneira não aleatória pela fêmea, ocorre um fenômeno denominado precedência espermática (Parker 1970). Nesse caso a sobreposição espacial dos ejaculados é mínima, e então há pouca ou nenhuma competição de espermatozoides. Os primeiros espermatozoides a serem utilizados podem ser os que foram depositados primeiro ou, então, por último. (Parker 1970b, Simmons 2001).

Quando o último macho a copular tem a vantagem sobre os outros machos na fertilização dos ovos, ele pode permanecer guardando a fêmea após a cópula para proteger o seu ejaculado e evitar a competição de espermatozoides, um comportamento denominado guarda do parceiro (Alcock 1994).

As vespas do gênero *Trypoxylon* nidificam em cavidades preexistentes, como ninhos abandonados de outras vespas ou buracos feitos em madeira por outros insetos, ou constroem ninhos expostos de barro. Elas são solitárias e cada fêmea é responsável por todas as atividades de nidificação, o que inclui a coleta do barro e a captura de aranhas (Bohart e Menke 1976). Estas fêmeas têm hábito predador, aprovendo suas células de cria de forma massal com aranhas paralisadas (Bohart e Menke 1976). Os ovos são postos sobre o abdômen de uma das aranhas, sendo um ovo por célula de cria. A separação entre as células de cria é feita através de paredes de barro.

No subgênero *Trypargilum*, assim como em algumas outras vespas esfeciformes (Bohart & Menke 1976, Kimsey 1978, Hook & Matthews 1980, Banks 1995, Brockmann & Grafen 1989, Antropov 1990, Hanson & Menke 1995), o macho guarda o ninho, defendendo-o contra predadores, parasitas ou coespecíficos (Coville & Coville 1980). O macho guarda permanece no ninho do início até o término da fundação (Cross *et al.* 1975, Coville & Coville 1980) e frequentemente copula com a fêmea nos retornos dela ao ninho (Amarante 1991a, Brockmann 1992, Garcia & Adis 1995).

A presença do macho durante a construção e provimento do ninho tem gerado vários questionamentos sobre a vantagem adaptativa desse comportamento. O macho aparentemente oferece alguma proteção à prole, o que pode resultar em maior garantia de que seus genes sejam passados à próxima geração (Cross *et al.* 1975, Brockmann 1992, Coville & Coville 1980, Amarante 1991a). Alcock *et al.* (1978) sugerem que o macho de *T. (Trypargilum)* poderia usar o ninho

simplesmente como local de garantia de cópula. Entretanto, apenas a garantia de cópula não assegura ao macho guarda a paternidade, já que a fêmea também copula com outros machos presentes na área de nidificação (Garcia & Adis 1995, Peruquetti 2003). Assim, essas duas hipóteses não são conclusivas, sendo necessários mais estudos para verificar se a presença do macho guarda em ninhos de *T. (Trypargilum) lactitarse* confere ao mesmo a paternidade da prole.

Este trabalho teve como objetivo estudar algumas características reprodutivas de *Trypoxylon (Trypargilum)*, morfológicas e comportamentais, que podem ajudar a esclarecer as dúvidas existentes sobre a guarda do ninho pelo macho nesse subgênero.

## Referências

- Alcock, J. 1994. Postinsemination associations between males and females in insects: The mateguarding 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.
- 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.
- Antropov, A.V. 1990. Another nest-guarding male of *Pison*. *Sphecos* 20: 20.
- Araújo, V.A., U. Zama, C.A. Neves, H. Dolder & J. Lino-Neto. 2005. Ultrastructural, histological and histochemical characteristics of the epithelial wall of the seminal vesicle of mature males of *Scaptotrigona xanthotricha* Moure (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Braz. J. Morph. Sci.* 22: 129-136.
- Ball, D.E. & S.B. Vinson. 1984. Anatomy and histology of the male reproductive system of the fire ant, *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 13: 283-294.
- Banks, D. 1995. Male defense in the digger wasp *Cerceris binodis* (Hymenoptera: Sphecidae). *J. Hym. Res.* 4: 77-79.

- Bohart, R.M. & A.S. Menke. 1976. Sphecidae wasps of the world - a generic revision. Berkeley, University of California Press, 695pp.
- Boomsma, J.J., B. Baer & J. Heinze. 2005. The evolution of male traits in social insects. *Annual Review of Entomology* 50: 395-420.
- Borror, D.J., C.H. Triplehorn & N.H. Johnson. 1992. An introduction to the study of the insects. 6th ed. Orlando, Saunders College Publishing.
- Brockmann, H.J. & A. Grafen. 1989. Mate conflict and male behaviour in a solitary wasp, *Trypoxylon (Trypargilum) politum* (Hymenoptera: Sphecidae). *Anim. Behav.* 37: 232-255.
- Brockmann, H.J. 1992. Male behavior, coexistence and nesting in *Trypoxylon (Trypargilum) monteverdeae* (Hymenoptera: Sphecidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 65: 66-84.
- Bushrow, E.S., C.L. Fuller, D.P. Cowan & C.A. Byrd. 2006. Anatomy of the male reproductive system and sperm morphology in the caterpillar-hunting wasp *Ancistrocerus antilope* (Hymenoptera, Vespidae). *Invertebr. Biol.* 125: 354–362.
- Chapman, R.F. 1998. *The Insects: Structure and Function*. 4th ed. Cambridge, Cambridge University Press, 788pp.
- Coville, R.E. & P.L. Coville. 1980. Nesting biology and male behavior of *Trypargilum tecnoctilan* in Costa Rica (Hymenoptera: Sphecidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 73: 110-119.
- 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: 28-48
- 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.
- Cruz-Landim, C. 1984. Haplodiploidia em Hymenoptera. *Brazilian Journal of Genetics* 7: 433-449.
- Cruz-Landim, C. & R.P. Dallacqua. 2002. Testicular reabsorption in adult males of *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Cytologia* 67: 145-151.
- Dallacqua, R.P. & C. Cruz-Landim. 2003. Ultrastructure of the ducts of the reproductive tract of males of *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apinae, Meliponini). *Anat. Histol. Embryol.* 32: 276-281.
- Damiens, D & G. Boivin. 2005. Male reproductive strategy in *Trichogramma evanescens*: sperm production and allocation to females. *Physiol. Entomol.* 30: 241–247.

- Dirks, T.F. & J.G. Sternburg. 1972. Male reproductive system of three species of *Polistes* (Hymenoptera: Vespidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 1: 315–320.
- Flanders, S.E. 1965. On the sexuality and sex ratios of hymenopterous populations. *Am. Nat.* 93: 489-494.
- 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.
- Gauld, I.D. & B. Bolton. 1996. *The Hymenoptera*. 2nd ed. London, Oxford University Press, 332pp.
- Gauld, I.D. & P.E. Hanson. 1995. The order Hymenoptera. In: *The Hymenoptera of Costa Rica*, (Hanson PE, Gauld IA, eds). New York, Oxford University Press.
- Gerber, H.S. & E.C. Klostermeyer. 1970. Sex control by bees: a voluntary act of egg fertilization during oviposition. *Science* 167: 82-84.
- Gulan, P.J. & S. Cranston. 2004. *The Insects: An outline of Entomology*. 3rd ed. Oxford, Blackwell Publishing, 528pp.
- Hanson, P.E. & A.S. Menke. 1995. The sphecid wasps (Sphecidae). In: *The Hymenoptera of Costa Rica* (Hanson PE, Gauld IA, eds). New York, Oxford University Press.
- Heinze, J. & B. Hölldobler. 1993. Fighting for a harem of queens: physiology of reproduction in *Cardiocondyla* male ants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 8412–8414.
- 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.
- Kerr, W.E., R. Zucchi, J.T. Nakadaira & J.E. Butolo. 1962. Reproduction in the social bees (Hymenoptera, Apidae). *J. N. Y. Entomol. Soc.* 70: 265-276.
- Kimsey, L.S. 1978. Nesting and male behavior in *Dynatus nigripes spinole* (Lepeletier). *Pan-Pac. Entomol.* 54: 64-68.
- Krombein, K.V. 1967. *Trap-nesting wasps and bees: life histories, nests and associates*. Washington, Smithsonian Press, 469 pp.
- LaSalle, J. & I.D. Gauld. 1993. Hymenoptera: their diversity, and their impact on the diversity of other organisms. In: *Hymenoptera and Biodiversity*, (LaSalle J, Gauld ID, eds). UK, C.A.B International.
- Lomholdt, O.C. 1985. A reclassification of the Larrine tribes with a revision of the Miscophini of Southern-Africa and Madagascar (Hymenoptera, Sphecidae). *Entomol. Scand.* 24(suppl.): 1–183.

- Melo, G.A.R. 1999. Phylogenetic relationships and classification of the major lineages of Apoidea (Hymenoptera), with emphasis on the crabronid wasps. *Sci. Pap. Nat. Hist. Mus. Univ. Kans.* 14: 1-55.
- Menke, A.S. 1988. Pison in the New World: a revision (Hymenoptera: Sphecidae: Trypoxylini). *Contrib. Am. Entomol. Inst.* 24: 1-171.
- Neubaum, D.M. & M.F. Wolfner. 1999. Wise, winsome, or weird? Mechanisms of sperm storage in female animals. *Current Topics in Developmental Biology* 41:67–97.
- Parker, G.A. 1970a. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biol. Rev.* 45: 525-567.
- Parker G.A. 1970b. Sperm competition and its evolutionary effect on copulation duration in the fly *Scatophaga stercoraria*. *J. Insect Physiol.* 16:1301–1328
- Peruquetti, R.C. 2003. Aspectos da biologia, estrutura populacional e parentesco intranidal em vespas do gênero *Trypoxylon* (Hymenoptera: Sphecidae). Tese de doutorado. UFSCar/SP.
- Richards, O.W. 1934. The American species of the genus *Trypoxylon*. *Trans. R. Entomol. Soc. Lond.* 82: 173-360.
- Simmons, L. W. 2001. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. Princeton, Princeton University Press, 434pp.
- Taber, S. & M.S. 1960. Preservation of honey bee semen. *Science* 131:1734–1735.

## 2. ARTIGOS CIENTÍFICOS

**2.1.** Moreira, P.A., V.A. Araújo, U. Zama & J. Lino-Neto. 2007. Morfologia do Sistema Reprodutor Masculino em *Trypoxylon* (*Trypargilum*) Latreille (Hymenoptera: Crabronidae). (Submetido à Neotropical Entomology).

**2.2.** Moreira, P.A., R.C. Peruquetti, L.A.O. Campos & J. Lino-Neto. 2007. Comportamento reprodutivo de *Trypoxylon lactitarse* e de *Trypoxylon nitidum* e a questão da ocorrência de machos-guardas no subgênero *Trypargilum*.

**2.1.** Moreira, P.A., V.A. Araújo, U. Zama & J. Lino-Neto. 2007. Morfologia do Sistema Reprodutor Masculino em *Trypoxylon* (*Trypargilum*) Latreille (Hymenoptera: Crabronidae). (Submetido à Neotropical Entomology).

**Morfologia do Sistema Reprodutor Masculino em *Trypoxylon (Trypargilum)*  
Latreille (Hymenoptera: Crabronidae).**

Polyana Amaral Moreira, Vinícius Albano Araújo, Uyrá Zama & José Lino Neto

RESUMO - A morfologia do sistema reprodutor de machos adultos de três espécies de *Trypoxylon (Trypargilum)* é descrita utilizando as microscopias de luz e eletrônica de transmissão. As três espécies estudadas possuem os sistemas reprodutores muito semelhantes, formados por um par de testículos cada um com três folículos fusiformes. De cada folículo parte um ducto eferente, e os três ductos eferentes se fundem, formando o ducto deferente. Os ductos deferentes se unem em um ducto ejaculatório. A primeira metade dos ductos deferentes é dilatada e diferenciada em uma região especializada no armazenamento de espermatozóides, a vesícula seminal. Na região pós-vesicular do ducto deferente desemboca a glândula acessória. Os testículos e as vesículas seminais são envoltos por uma única cápsula de tecido conjuntivo. Os indivíduos sexualmente maduros apresentam todas as fases da espermatogênese em seus folículos. Os espermatozóides são liberados dos testículos em feixes, que são desorganizados na vesícula seminal.

PALAVRAS-CHAVE: Histologia, testículos, vespas esfeciformes.

Morphology of Male Reproductive System in *Trypoxylon (Trypargilum)* Latreille (Hymenoptera: Crabronidae).

ABSTRACT - The morphology of the male reproductive tract of three species of *Trypoxylon (Trypargilum)* using light and transmission electron microscopy was described. The species studied have similar reproductive tracts, which are formed by a pair of testicles, each with three fusiform follicles. From each of the three follicles emerges an efferent duct that later join forming a deferent duct. The deferent ducts end in one ejaculatory duct. The first half of deferent ducts is enlarged in a region specialized in sperm storage, the seminal vesicle. The accessory gland opens into the post-vesicular region of the deferent duct. Testicles and seminal vesicles are both involved by a conjunctive capsule. Sexually mature individuals have all spermatogenesis stages in their follicles. Sperms are released from testicles in bundles which later have the glycoprotein substances dissolved in the seminal vesicle.

KEY WORDS - Histology, testicles, sphecid wasps.

## Introdução

Até recentemente os Apoidea eram divididos nas famílias Apidae, Sphecidae (*l. sensu*) e Heterogynaidae (Brothers 1975). No entanto, Melo (1999) sugeriu que os Apoidea fossem distribuídos em cinco famílias: Heterogynaidae, Ampulicidae, Sphecidae (*s. sensu*), Apidae (todas as abelhas) e Crabronidae (com cinco subfamílias). Tal sugestão se deveu principalmente por seus dados indicar que a família Sphecidae (*sensu* Bohart & Menke 1976) é parafilética. Melo (1999) aponta os Crabronidae como uma família de esfeciformes derivada e, sendo, portanto, a mais relacionada às abelhas. Entretanto, ainda existem diversas dúvidas com relação à filogenia dos Apoidea. Por exemplo, a posição exata de Ampulicidae e Sphecidae ainda é discutida, e dados moleculares de Ohl & Bleidorn (2006) indicam Heterogynaidae como membro da família Crabronidae, fato que não é suportado por dados morfológicos.

O gênero *Trypoxylon* (Latreille) pertence à família Crabronidae (*sensu* Melo 1999) e apresenta ampla distribuição geográfica (Bohart & Menke 1976). Ele possui mais de 660 espécies descritas (Hanson & Menke 1995), nos subgêneros *Trypoxylon* e *Trypargilum* (Richards 1934).

Os *Trypoxylon* são vespas que utilizam aranhas para provisionamento do ninho (Bohart & Menke 1976). Eles constroem seus ninhos em cavidades preexistentes, como buracos feitos em madeira por outros insetos, ou podem ser ninhos expostos de barro (Bohart & Menke 1976). Um comportamento especialmente interessante no subgênero *Trypargilum* é a permanência do macho no interior do ninho, como um guarda, durante a construção e o provisionamento pela fêmea (Bohart & Menke 1976).

Em geral o sistema reprodutor de Hymenoptera é formado por um par de testículos, dois ductos deferentes e um ducto ejaculatório. Geralmente, em cada ducto deferente ocorre uma região, a vesícula seminal, onde os espermatozóides ficam armazenados até a cópula e, ainda em cada ducto, desemboca uma glândula acessória. Entretanto, há variações morfológicas nesse padrão entre grupos de Hymenoptera, as quais têm sido usadas como informações filogenéticas (Cruz-Landim & Cruz-Hofling 1969, Gotwald & Burdette 1981, Wheeler & Krutzsch 1992, Duvoisin *et al.* 1999, Baer & Schmid-Hempel 2000, Cruz-Landim 2001, Cruz-Landim & Dallacqua 2002, Baer 2003, Dallacqua & Cruz-Landim 2003, Tavares *et*

al. 2003, Ferreira *et al.* 2004).

Ferreira *et al.* (2004), em seu trabalho envolvendo 51 espécies de abelhas (em seis famílias, de acordo com a classificação de Michener, 1965), dividiu os sistemas reprodutores masculinos em quatro tipos. O Tipo I está presente nas abelhas mais basais (Colletidae, Andrenidae, Halictidae e Megachilidae) e é caracterizado por apresentar testículos com três folículos e a cápsula testicular envolvendo, além dos testículos, quase totalmente os ductos deferentes. O tipo II está presente em Melilitidae, Megachilidae e algumas espécies de Apidae, sendo caracterizado por apresentar testículos com três ou quatro folículos e possuir as regiões pós-vesiculares dos ductos deferentes não envolvidas pela cápsula. O tipo III, observado somente em Apidae, é caracterizado por apresentar testículos e ductos genitais encapsulados separadamente e, ainda, ter as glândulas acessórias bem desenvolvidas e o ducto ejaculatório calibroso. O tipo IV, presente nos Meliponini, é caracterizado pela ausência de glândulas acessórias.

Trabalhos sobre sistema reprodutor masculino de Apoidea, além do de Ferreira *et al.* (2004), há apenas mais dois (Dallacqua & Cruz-Landim 2003; Araújo *et al.* 2005). Como naqueles trabalhos foram estudadas apenas abelhas, este é o primeiro a descrever esse sistema em vespas esfeciformes. Nele é descrita a morfologia do sistema reprodutor masculino de três espécies de *Trypoxylon* (*Trypargilum*), com o objetivo de contribuir com o conhecimento da biologia reprodutiva destes Hymenoptera, bem como fornecer dados que possam ser utilizados em estudos filogenéticos dos Apoidea.

## Material e Métodos

Machos adultos de *Trypoxylon* (*Trypargilum*) *lactitarse* (Saussure), *Trypoxylon* (*Trypargilum*) *rogenhofrei* (Kohl) e *Trypoxylon* (*Trypargilum*) *aurifrons* (Shuckard) foram obtidos a partir de ninhos armadilhas colocados no Apiário Central da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG) e no sítio Bela Vista, Conceição do Castelo (ES), Brasil.

**Microscopia de luz.** Para análise histológica, sistemas reprodutores de machos adultos foram fixados por 12 horas em glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH 7,2 e pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1%. Em seguida, eles

foram desidratados em concentração crescente de álcool e incluídos em Historesin<sup>®</sup> (GMA, Leica). Cortes de 2 µm foram corados com azul de toluidina-borato de sódio a 1% e montados com Entelan (Merck). A análise e o registro fotográfico foram feitos em um microscópio Olympus CX-31.

Para a análise anatômica, logo após a fixação, alguns sistemas reprodutores inteiros foram fotografados em microscópio Olympus CX-31 e microscópio estereoscópico Olympus SZ40.

**Microscopia eletrônica de transmissão.** Vesículas seminais foram fixadas por 3 horas em uma solução de glutaraldeído a 2,5%, em tampão cacodilato 0,1 M, pH 7,2, ácido pícrico 0,2%, sacarose 3% e CaCl<sub>2</sub> 5 mM e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% no mesmo tampão. Em seguida, desidratadas em acetona e incluídas em Epon 812. Os cortes ultrafinos foram contrastados com acetato de uranila 0,1% e citrato de chumbo 0,01% e fotografados em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss Leo 906.

## Resultados

Os sistemas reprodutores das três espécies de *Trypoxylon* (*Trypargilum*) têm morfologias similares (Fig. 1A). Eles apresentam dois testículos, cada um com três folículos, ou túbulos seminíferos, fusiformes (Figs. 1B e C). De cada folículo parte um ducto eferente (Fig. 1B e C); os três ductos eferentes se fundem formando os ductos deferentes (Fig. 1B). A metade anterior dos ductos deferentes é dilatada e diferenciada em uma vesícula seminal, onde os espermatozóides são armazenados até a cópula (Figs. 1B e 2D). A vesícula seminal é tubular e apresenta uma dobra na região mediana que a divide em duas regiões, as quais ficam em paralelo entre si e com o testículo (Figs. 1B e D). As vesículas seminais e os testículos são envolvidos por uma única cápsula de tecido conjuntivo (Figs. 1A e D). No ducto deferente, logo após a região vesicular, desemboca a glândula acessória (Figs. 1A e B) e, posteriormente, os ductos deferentes desembocam no ducto ejaculatório (Fig. 1B).

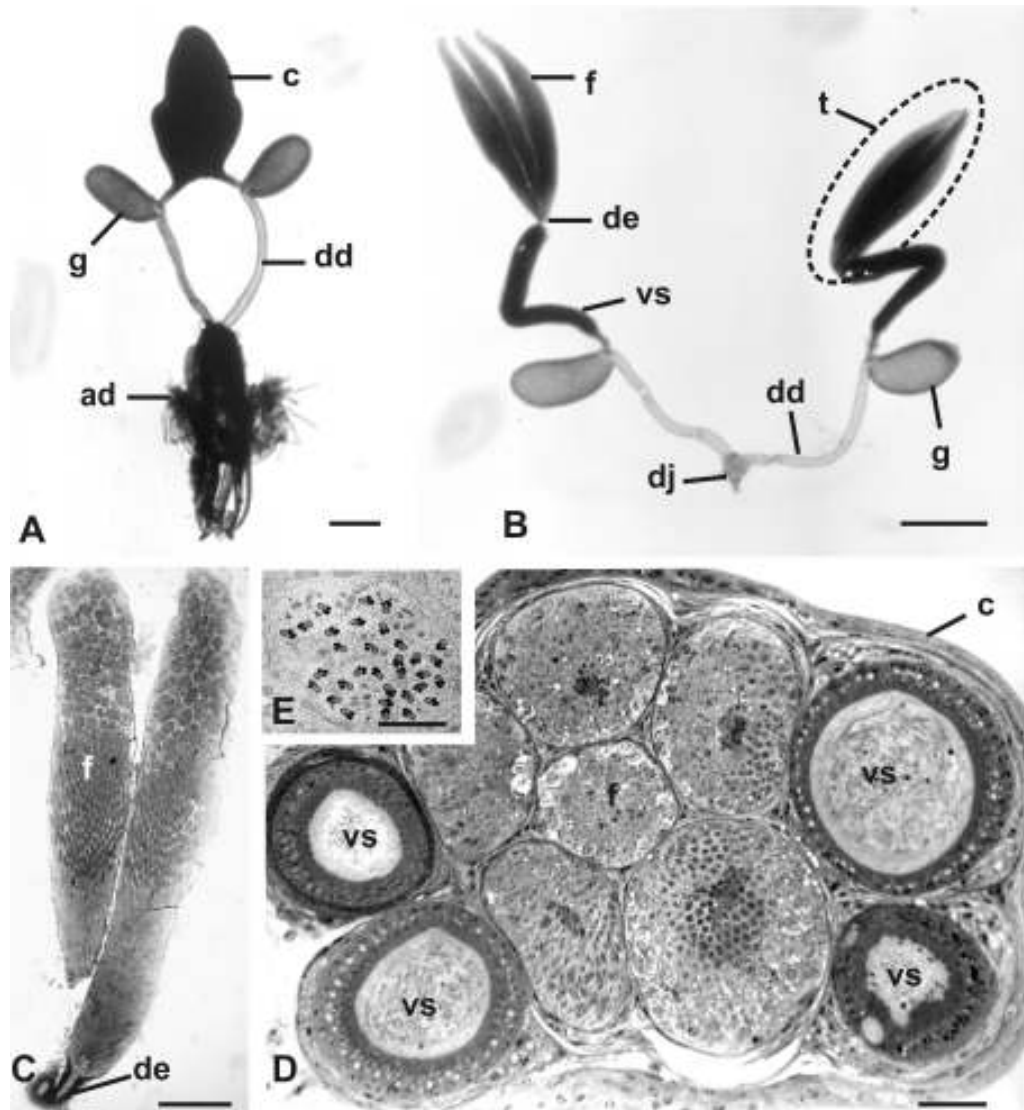
Os folículos são revestidos por uma camada de tecido conjuntivo, e totalmente preenchidos com cistos, que são constituídos por células espermáticas envolvidas por células somáticas (Figs. 1C e E). Mesmo nos indivíduos sexualmente maduros os folículos são totalmente preenchidos por cistos nas diferentes fases da

espermatogênese. Em cada cisto, o processo espermatogênico é sincronizado, possuindo todas as células na mesma fase de diferenciação. Durante esse processo, os cistos se deslocam da região terminal do folículo para a região proximal. Assim, os folículos possuem regiões diferenciadas ao longo do seu comprimento, com as células mais jovens situadas no ápice (Fig. 1C). Na fase de espermátide cada cisto possui até 32 células, número que é mantido na fase de espermatozóide (Figs. 1E e 2F). No final da espermatogênese é secretada uma substância glicoprotéica que assume a forma de capuz, na qual fica inserida a região anterior das cabeças dos espermatozóides (Figs. 2E e F). Essa substância mantém os espermatozóides unidos em feixes e, assim, eles são transferidos para as vesículas seminais (Fig. 2A), onde esses feixes são gradualmente desfeitos (Figs. 2D e E).

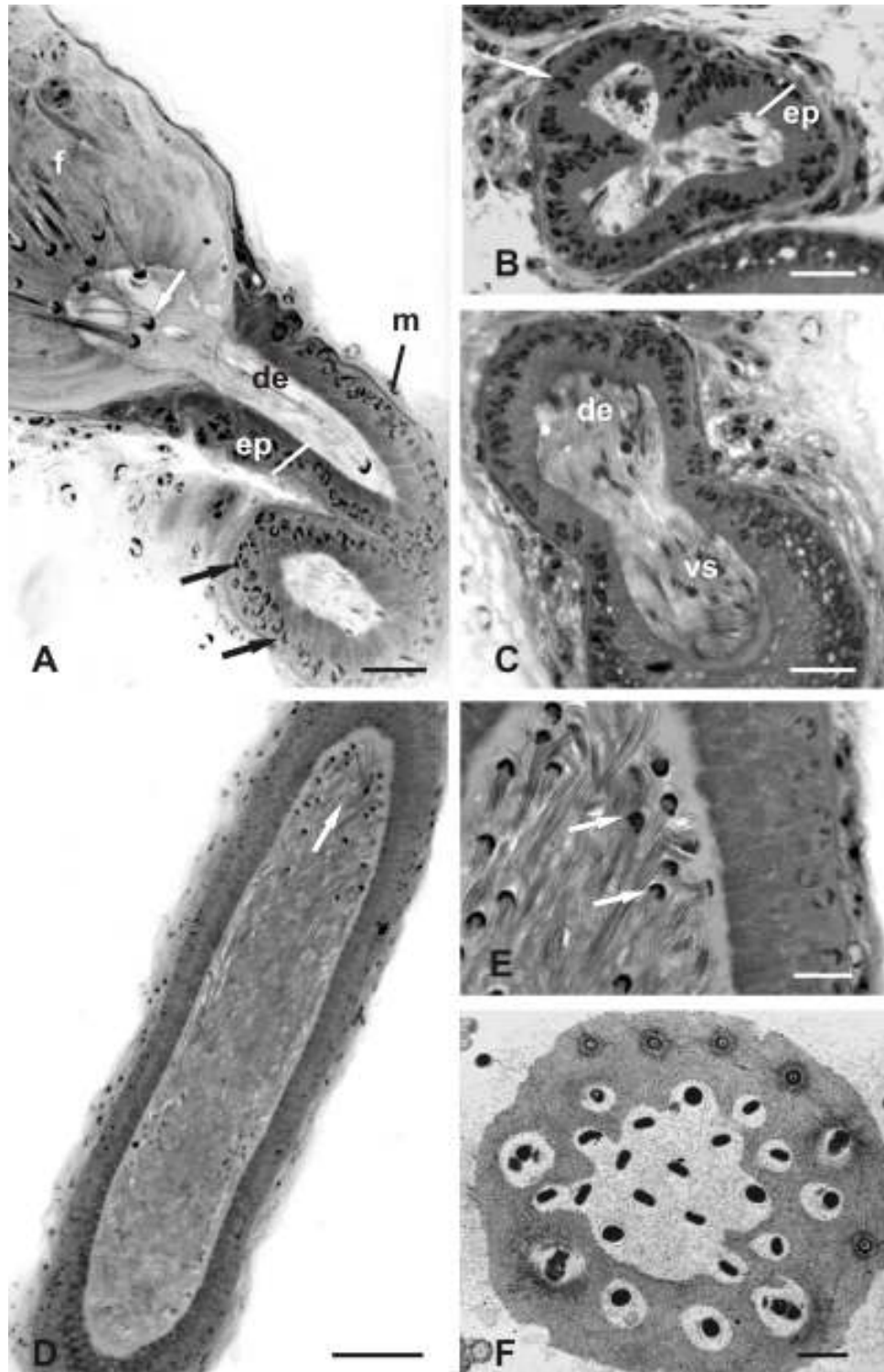
Todos os ductos são formados por epitélio simples, com células de núcleo esférico e usualmente basal. Uma fina membrana basal separa as células epiteliais de uma túnica formada por feixes longitudinais e transversais de células musculares (Figs. 2A-E, 3A-C, 4D, F e H). Os ductos eferentes e a região pré-vesicular dos ductos deferentes possuem epitélio de células cúbicas com inclusões citoplasmáticas, fortemente coradas com azul de toluidina, no domínio apical (Figs. 2A-C). As vesículas seminais possuem diferenças histológicas entre a região anterior e posterior à dobra. A região anterior possui secreção homogênea e a túnica muscular é delgada (Figs. 3A e D), enquanto na posterior a secreção é densa e heterogênea e a túnica muscular espessa (Figs. 3C e E). O epitélio é formado por células prismáticas com núcleo esférico e basal. Acima do núcleo ocorrem figuras mielínicas e vesículas de secreção com conteúdos variados. No ápice se observa grande quantidade de mitocôndrias e a membrana plasmática com microvilosidades (Figs. 3A e B). Após a vesícula seminal, o ducto deferente torna-se constricto, quase obliterado, projetando-se na região de inserção da glândula acessória (Figs. 4A-D).

As glândulas acessórias são ovais (Fig. 4A) e têm epitélio com células prismáticas de núcleo pequeno, localizado no terço basal, e muitos grânulos de secreção em todo o citoplasma (Figs. 4B, C e E).

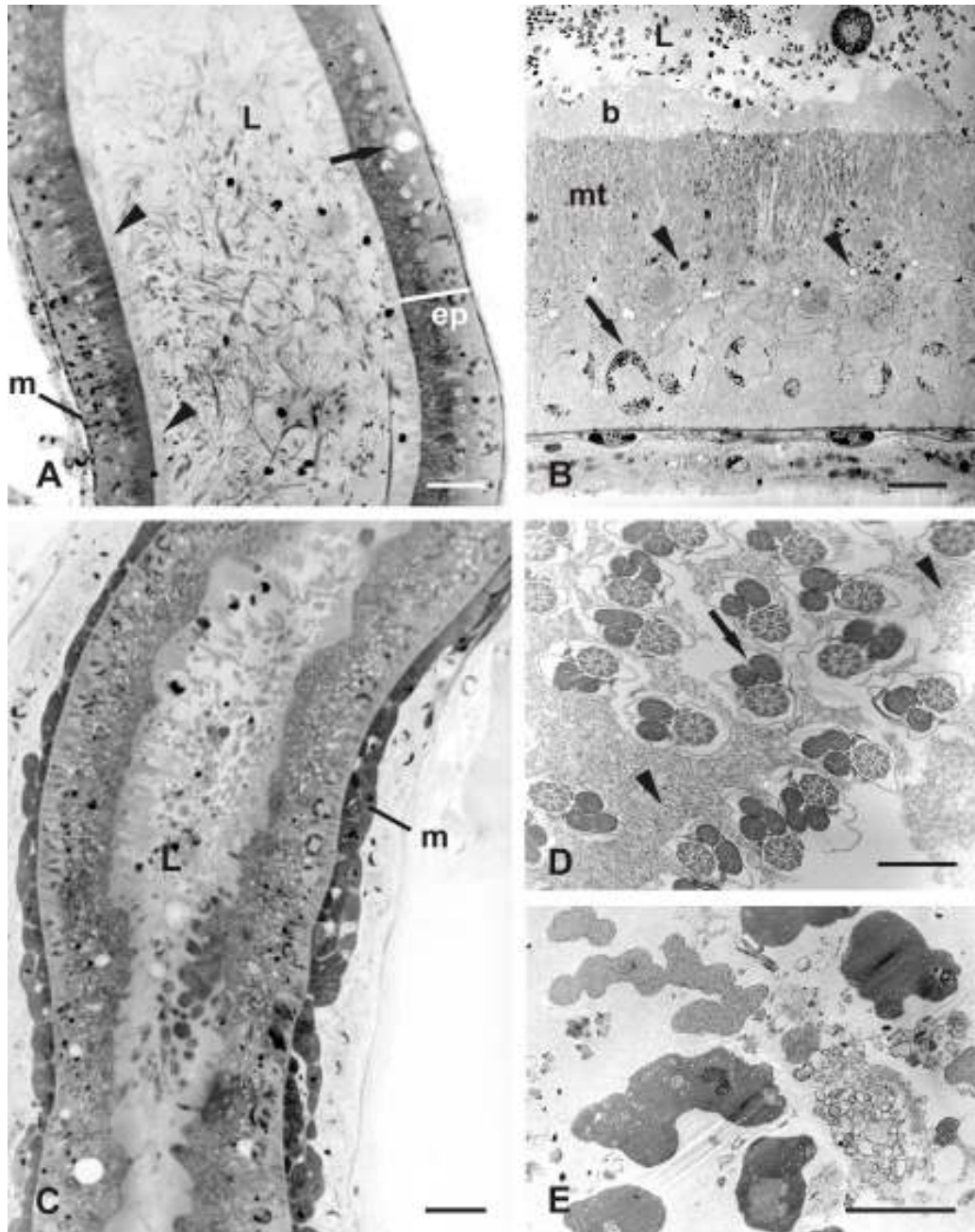
O ducto deferente, após a abertura glandular, possui células cúbicas com microvilosidade bastante evidente (Fig. 4C e F). Os ductos deferentes desembocam no ducto ejaculatório (Fig. 4G), o qual possui o epitélio revestido internamente por uma fina cutícula (Fig. 4H).



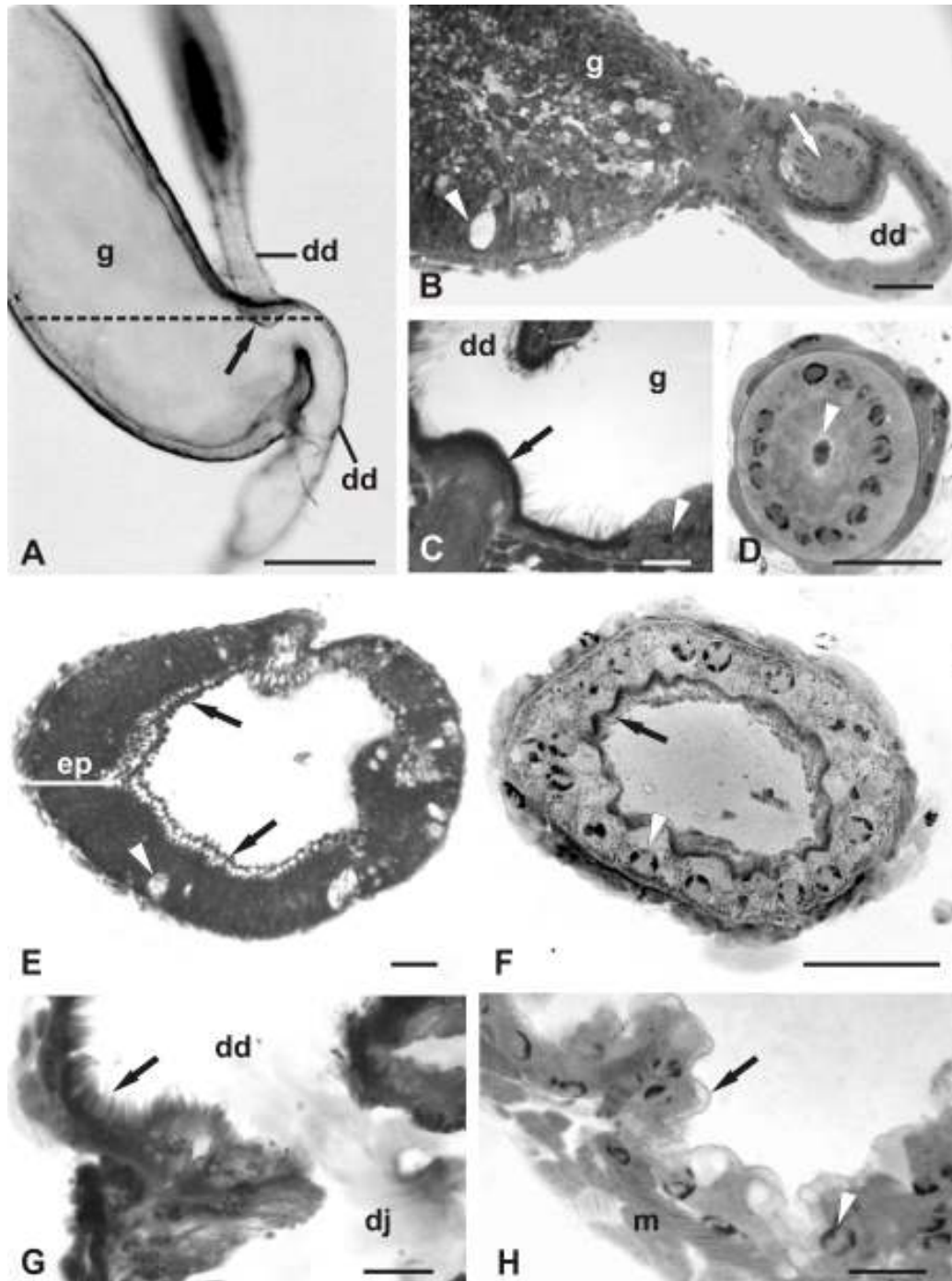
**Figura 1.** Anatomia e histologia do sistema reprodutor de machos de *Trypoxylon* (*Trypargilum*) *lactitarse*. **A-** Testículos e vesículas seminais envolvidos pela cápsula (c), glândulas acessórias (g), ductos deferentes (dd) e aedeagus (ad). **B-** Testículos (t) e os seus três folículos (f), ductos eferentes (de), vesículas seminais (vs) e ducto ejaculatório (dj). **C-** Corte longitudinal de um folículo (f), onde se observa as diferentes zonas de maturação dos espermatozoides e sua liberação no ducto eferente (de). **D-** Corte transversal da região encapsulada, onde vê-se a organização das vesículas seminais (vs) e dos folículos testiculares (f). **E-** Corte transversal, na região dos flagelos, de um cisto com 32 espermatozoides.. Barras: **A e B** = 0,4 mm; **C** = 0,2 mm; **D** = 50  $\mu$ m; **E** = 2  $\mu$ m.



**Figura 2.** A- Corte longitudinal da transição de fólculo (f) para ducto eferente (de) e ducto eferente (de) em corte transversal. B- Junção dos três ductos eferentes, formando um ducto deferente, em corte transversal. Epitélio (ep) com núcleos basais (seta). C- Corte longitudinal na transição de ducto deferente (dd) para vesícula seminal (vs). D- Corte longitudinal na vesícula seminal (vs). E- Detalhe de D. F- Espermatozóides em feixe, envoltos por substância glicoprotéica, em corte transversal. Epitélio = ep, núcleos = setas pretas, feixes de espermatozóides = setas brancas. Barras: A-C = 25  $\mu$ m; D = 50  $\mu$ m; E = 10  $\mu$ m; F = 0,5  $\mu$ m.



**Figura 3.** Micrografias de luz (A e C) e eletrônica de transmissão (B, D e E) da vesícula seminal de *Trypoxylon (Trypargilum)*. A- Corte longitudinal da região anterior da vesícula seminal. Camada muscular (m) inconspícua, epitélio (ep) com estruturas vesiculares (seta) e borda estriada (cabeças de seta). B- Parede da vesícula seminal com núcleos esféricos e basais (seta), estruturas vesiculares na região mediana (cabeças de seta) e mitocôndrias (mt) e borda estriada (b) na região apical. C- Corte longitudinal da região posterior da vesícula seminal, com espessa camada muscular (m). D- Lúmem (L) da vesícula seminal na região anterior, com secreção homogênea (cabeças de seta) envolvendo os espermatozoides (seta). E- Lúmem da vesícula seminal na região posterior, com secreção densa e heterogênea. Barras: Barras: A e C = 25  $\mu$ m; B e E = 5  $\mu$ m; D = 0,5  $\mu$ m.



**Figura 4.** A- Microcopia de luz de parte da glândula acessória (g) com sua inserção no ducto deferente (dd), o qual projeta-se na luz (seta). B- Corte transversal na região tracejada da figura anterior, com secreção no epitélio glandular (cabeça de seta). C- Corte longitudinal na região de inserção da glândula acessória no ducto deferente. Cabeça de seta: núcleos. D- Corte transversal do ducto deferente pós-vesicular com lúmem reduzido. E- Corte transversal da glândula acessória. Epitélio (ep) com vesículas (cabeça de seta) e secreção apócrina (setas). F- Corte transversal dos ductos deferentes pós-vesiculares após a inserção da glândula acessória. Núcleos (cabeça de seta) e borda estriada (seta). G- Corte longitudinal da entre ductos deferente (dd) e ejaculatório (dj). H- Ducto ejaculatório com cutícula (seta), núcleos esféricos (cabeça de seta) e camada muscular (m). Barras: A = 0,2 mm; B-E = 50 µm; G e H = 15 µm.

## Discussão

O sistema reprodutor de *Trypoxylon (Trypargilum)* é semelhante ao Tipo I descrito para abelhas das famílias Colletidae, Andrenidae, Halictidae e Megachilidae (Ferreira *et al.* 2004). Ele é especialmente semelhante àquele de Colletidae devido à presença de três folículos por testículo, uma única cápsula envolvendo os testículos e as vesículas seminais e estas com diâmetro semelhante ao dos ductos deferentes. Além disso, em ambos os casos os ductos deferentes pós-vesiculares são curtos e se abrem na porção inicial da glândula acessória. Essa semelhança, encontrada entre as abelhas e *Trypoxylon (Trypargilum)* corrobora dados morfológicos e moleculares que indicam os Crabronidae como grupo-irmão das abelhas (Melo 1999, Michener 2000). Ainda, Colletidae é considerado o grupo mais basal de abelhas (Michener 2000), o que é reforçado pela grande semelhança entre o sistema reprodutor de Crabronidae e o dessas abelhas.

O número de espermatozóides por feixe pode apresentar variações interespecíficas que têm sido usadas para análises filogenéticas (Cruz-Landim 2001, Schiff 2001). Em *Trypoxylon (Trypargilum)* são encontrados até 32 espermatozóides por feixe. Na maioria das abelhas corbiculadas são 62, exceto Meliponini onde se observa até 128 espermatozóides por feixe (Cruz-Landim 2001). Esse mesmo número também ocorre em *Sceliphron* sp. (Sphecidae *stricto sensu*) (Moreira, informação pessoal). De acordo com Virkki (1970, 1973), insetos mais derivados tendem a ter menos espermatozóides por feixes do que aqueles mais basais. Isso é corroborado pelo número de espermatozóides em *Trypoxylon* e *Sceliphron*, já que os Sphecidae são considerados mais basais que os Crabronidae (Melo 1999).

Na maioria dos Hymenoptera os espermatozóides são liberados dos testículos em feixes. Em Aculeata, como observado em *Trypoxylon (Trypargilum)*, os feixes são gradualmente desmontados na vesícula seminal (Moreira *et al.* 2004). Já em Symphyta, espermatozóides permanecem em feixes na vesícula seminal e, provavelmente, são assim transferidos para as fêmeas (Lino-Neto, informação pessoal). Por outro lado, em vespas parasíticas, os espermatozóides deixam os testículos já individualizados, pois nesses insetos não tem sido observado nenhum feixe de espermatozóides tanto na vesícula seminal como nos ductos deferentes (ver Schiff 2001).

A produção contínua de espermatozóide em *Trypoxylon (Trypargilum)*, evidenciada pela presença de cistos em diferentes fases da espermatogênese nos seus testículos, está de acordo com a observação de que esses indivíduos copulam ao longo da fase adulta (Brockmann 1992, Garcia & Adis 1995, Coville *et al.* 2000), que dura cerca de dois meses (Buschini 2007). Produção contínua de espermatozoides normalmente ocorre naquelas espécies em que os machos adultos são sexualmente ativos durante toda a fase adulta, a qual é geralmente longa (Heinze & Hölldobler 1993). Por outro lado, há várias espécies de Hymenoptera, principalmente aquelas sociais, em que os machos produzem espermatozoides apenas uma vez e, em seguida, os testículos degeneram. A produção geralmente começa já na fase de pupa e completa-se imediatamente antes deles emergirem ou poucos dias após a emergência (Lima *et al.* 2006). Estes indivíduos podem copular várias vezes, mas em um curto intervalo de tempo (Baer & Boomsma 2003), pois eles não repõem o estoque de espermatozoides das vesículas seminais.

Os machos de *Trypoxylon (Trypargilum)*, além de copularem ao longo da fase adulta, ainda copulam várias vezes em um curto período de tempo. Esse comportamento também tem sido observado em outros Hymenoptera, nos quais as vesículas seminais possuem uma válvula ou constrição que é capaz de dosar a quantidade de espermatozoides eliminada em cada cópula (Baer & Boomsma 2003, Damiens & Boivin 2005). Considerando isso, pode-se supor que, em *Trypoxylon (Trypargilum)*, a dobra, dividindo a vesícula seminal em duas regiões, tenha função semelhante à válvula ou constrição que ocorre nas espécies acima. Além disso, a túnica muscular mais espessa na região posterior da vesícula seminal de *Trypoxylon (Trypargilum)* também contribui para a suposição de que apenas os espermatozoides dessa região sejam transferidos para a fêmea em cada cópula.

A porção apical do epitélio da vesícula seminal apresenta muitas mitocôndrias, como também foi observado em outros Aculeata como *Apis mellifera* (Cruz-Landim & Cruz-Hofling 1969), *Camponotus* (Wheeler & Krutzsch 1992), *Melipona bicolor bicolor* (Dallacqua & Cruz Landim 2003) e *Scaptotrigona xanthotricha* (Araújo *et al.* 2005). Provavelmente, isso indica alta atividade metabólica nestas células, envolvendo principalmente a regulação do pH do lúmen (Wheeler & Krutzsch 1992).

Como na maioria dos insetos, o ducto ejaculatório de *Trypoxylon (Trypargilum)* é único, mediano e apresenta uma cutícula, evidenciando sua origem

ectodérmica. Bushrow *et al.* (2006) descreveram, em *Ancistrocerus antilope* (Vespidae), a presença de dois ductos ejaculatórios, os quais, anteriormente, começam na base das glândulas acessórias e, posteriormente, se unem formando o ducto ejaculatório comum. No entanto, como esses autores não mostraram a histologia desses ductos, não é possível sabermos se os dois ductos que saem das glândulas acessórias possuem ou não cutícula e, portanto, se são ductos ejaculatórios ou a região posterior dos ductos deferentes como descrevemos para *Trypoxylon (Trypargilum)*.

Conforme o exposto acima, fica evidente que o sistema reprodutor masculino de *Trypoxylon (Trypargilum)* apresenta o padrão básico daqueles de Hymenoptera, mas também tem diversidades morfológicas capazes de caracterizá-los como subgênero. Diversidades estas que, certamente, também poderão ser usadas em análises filogenéticas dentro dos esfeciformes ou, até mesmo, dos Apoidea. Ainda, como era esperado, as características morfológicas do sistema reprodutor nos deram informações sobre o comportamento reprodutivo dessas espécies. Entretanto, para compreender melhor a biologia reprodutiva desse grupo de insetos, mais estudos são necessários.

### **Agradecimentos**

Agradecemos ao Dr. Lucio A.O. Campos (UFV) pelos insetos e ao CNPq e à Capes, pela ajuda financeira.

## Referências

- Araújo, V.A. 2005. Morphology and ultrastructure of the spermatozoa of *Scaptotrigona xanthotricha* Moure (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Braz. J. Morphol. Sci. 22: 137-141.
- Baer, B. & H. Schmid-Hempel. 2000. The artificial insemination of bumblebee queens. Insectes Soc. 47: 47: 183-187.
- Baer, B. & J.J. Boomsma. 2003. Male reproductive investment and polyandry in fungus-growing ants. Behav. Ecol. 15: 426-432.
- Bohart, R.M. & A.S. Menke. 1976. Sphecidae wasps of the world - a generic revision. University of California Press. Berkeley. 695 pp.
- Brockmann, H.J. 1992. Male behavior, coexistence and nesting in *Trypoxylon* (*Trypargilum*) *monteverdeae* (Hymenoptera: Sphecidae). J. Kans. Entomol. Soc. 65: 66-84.
- Brothers, D.J. 1975. Phylogeny and classification of the aculeate Hymenoptera, with special reference to Mutillidae. Univ. Kans. Sci. Bull. 28: 483-648.
- Buschini, M.L.T. 2007. Life-history and sex allocation in *Trypoxylon* (syn. *Trypargilum*) *lactitarse* (Hymenoptera; Crabronidae). J. Zool. Syst. Evol. Res. doi: 10.1111/j.1439-0469.2006.00405.x
- Bushrow, E.S., C.L. Fuller, D.P. Cowan & C.A. Byrd. 2006. Anatomy of the male reproductive system and sperm morphology in the caterpillar-hunting wasp *Ancistrocerus antilope* (Hymenoptera, Vespidae). Invertebr. Biol. 125: 354-362.
- 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: 28-48
- Cruz-Landim, C. & M.A. Cruz-Hofling. 1969. Electron microscope observations on honeybee seminal vesicle (*Apis mellifera adansonii*, Hymenoptera, Apidae). Pap. Avulsos Zool. (Sao Paulo) 14: 145-151.
- Cruz-Landim, C. & R.P. Dallacqua. 2002. Testicular reabsorption in adult males of *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Cytologia 67: 145-151.
- Cruz-Landim, C. 2001. Organization of the cysts in bee (Hymenoptera, Apidae) testis: number of spermatozoa per cyst. Iheringia Ser. Zool. 91: 183-189.
- Culin, J.D. & M.W. Robertson. 2003. Spider prey of *Trypoxylon lactitarse* Saussure (Hymenoptera: Sphecidae). J. Entomol. Sci. 38: 321-333.

- Dallacqua, R.P. & C. Cruz-Landim. 2003. Ultrastructure of the ducts of the reproductive tract of males of *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apinae, Meliponini). *Anat. Histol. Embryol.* 32: 276-281.
- Damiens D. & G. Boivin G. 2005. Male reproductive strategy in *Trichogramma evanescens*: sperm production and allocation to females. *Physiol. Entomol.* 30: 241-247.
- Duvoisin, N., B. Baer & H. Schmid-Hempel. 1999. Sperm transfer and male competition in a bumblebee. *Anim. Behav.* 58: 743-749.
- Ferreira A., F.C. Abdalla, W.E. Kerr & C. Cruz-Landim. 2004. Comparative anatomy of the male reproductive internal organs of 51 species of bees. *Neotrop. Entomol.* 33: 569-576.
- 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.
- Gotwald, W.H. & W. Budette. 1981. Morphology of the internal reproductive system in army ants: Phylogenetic implications (Hymenoptera: Formicidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 83: 72-92.
- Hanson, P.E. & A.S. Menke. 1995. The sphecid wasps (Sphecidae). In: *The Hymenoptera of Costa Rica*, (Hanson PE, Gauld IA, eds). pp. 621-649. Oxford University Press: New York.
- Heinze, J. & B. Hölldobler. 1993. Fighting for a harem of queens: physiology of reproduction in *Cardiocondyla* male ants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 8412-8414.
- Lima, M.A., J. Lino-Neto, L.A.O. Campos. 2006. Sexual maturation in *Melipona mondury* males (Apidae: Meliponini). *Braz. J. Morph. Sci.* 23:129-136.
- Melo, G.A.R. 1999. Phylogenetic relationships and classification of the major lineages of Apoidea (Hymenoptera), with emphasis on the crabronid wasps. *Sci. Pap. Nat. Hist. Mus. Univ. Kans.* 14: 1-55.
- Michener, C.D. 2000. *The bees of the world*. The Johns Hopkins University Press: Baltimore. 913 pp.
- Moreira, J.C.S., U. Zama & J. Lino-Neto. 2004. Release, behavior and phylogenetic significance of spermatozoa in bundles in the seminal vesicle during sexual maturation in Aculeate (Hymenoptera). *Braz. J. Morphol. Sci.* 21: 185-189.
- Ohl, M. & C. Bleidorn. 2006. The phylogenetic position of the enigmatic wasp family Heterogynaidae based on molecular data, with description of a new, nocturnal species (Hymenoptera: Apoidea). *Syst. Entomol.* 31: 321-337.

- Richards, O.W. 1934. The American species of the genus *Trypoxylon*. Trans. R. Entomol. Soc. Lond. 82: 173-360.
- Schiff, N., A.J. Flemming, D.L.J. Quicke. 2001. Spermatodesmata of the sawflies (Hymenoptera: Symphyta): evidence for multiple increases in sperm bundle size. J. Hym. Res. 10: 119-125
- Tavares, M.G., A.S.T. Irsigler & L.A Oliveira Campos. 2003. Testis length distinguishes haploid from diploid drones in *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Meliponinae). Apidologie 34: 449-455.
- Virkki, N. 1970. Alticial beetles with 128 sperm cell per bundle. J. Agric. Univ. P. Rico 54: 586-587.
- Virkki, N. 1973. Evolution of sperm cell number per bundle in insects. An. Esc. Nac. Cienc. Biol. Mex. 20: 23-54.
- Wheeler, D.E. & P.H. Krutzsch. 1992. Internal reproductive system in adult males of the genus *Camponotus* (Hymenoptera: Formicidae: Formicinae). J. Morphol. 211: 307-317.

**2.2.** Moreira, P.A., R.C. Peruquetti, L.A.O. Campos & J. Lino-Neto. 2007. Comportamento reprodutivo de *Trypoxylon lactitarse* e de *Trypoxylon nitidum* e a questão da ocorrência de machos-guardas no subgênero *Trypargilum*.

**Comportamento reprodutivo de *Trypoxylon lactitarse* e de *Trypoxylon nitidum* e a questão da ocorrência de machos-guardas no subgênero *Trypargilum*.**

Polyana A. Moreira, Rui C. Peruquetti, Lucio A. O. Campos e José Lino Neto

**Introdução**

Machos e fêmeas parecem ter em comum um único interesse, a produção de prole viável e reprodutivamente funcional (Alexander & Borgia 1979, West-Eberhard *et al.* 1987, Alexander *et al.* 1997). Muitas vezes as interações entre machos e fêmeas são caracterizadas por conflitos relacionados ao tempo e à energia gastos nos cuidados com a prole e, em alguns casos, ao controle do sexo dela (Gerber & Klostermeyer 1970, Bourke 1997, Choe & Crespi 1997, Strohm & Linsenmair 1999, West & Sheldon 2002). Este último caso ocorre e é particularmente intenso em organismos haplodiplóides, já que neles há assimetria de parentesco entre os membros da família (Hamilton 1964). Por exemplo, em vespas, abelhas e formigas (Hymenoptera) as fêmeas são produzidas a partir de óvulos fecundados e os machos de óvulos não-fecundados. Assim, o sucesso reprodutivo do macho é determinado pelo número de filhas que ele tem. Para a fêmea, não havendo seleção sexo-dependente (Molmby 1997, Peruquetti & Del Lama 2003), a produção de filhas ou filhos é indiferente.

Para garantir o sucesso reprodutivo, diferentes estratégias são adotadas por machos de diferentes espécies (Parker 1970), mas a cópula com várias fêmeas parece ser a mais comum (Thornhill & Alcock 1983). Entretanto, em algumas vespas esfeciformes o macho se associa a uma única fêmea durante todo o processo de nidificação (Brockmann 1996). Nesse período ocorrem cópulas múltiplas, o que não é comum em Hymenoptera (Daly 1978, Parker 1979, Thornhill & Alcock 1983, Wing 1988, Arnqvist 1989, Helversen & Helversen 1991, Rowe 1994, Hurst *et al.* 1995, Watson *et al.* 1998). Isso acontece, por exemplo, em vespas do gênero *Trypoxylon* (*Trypargilum*) (Crabronidae), onde há um macho denominado guarda (Brockmann 1988) que permanece dentro do ninho em construção por longos períodos de tempo. Ele defende o ninho contra predadores ou parasitas e, algumas vezes, auxilia a fêmea no processo de aprovisionamento do ninho. Enquanto o macho guarda permanecer no ninho, ele copulará repetidamente com a mesma fêmea (Coville & Coville 1980; Brockmann e Grafen 1989; Garcia & Adis 1995; Coville

*et al.* 2000). A presença do macho guarda também aumenta a eficiência de caça da fêmea (Brockmann 1988). É interessante notar que, nos ninhos destas vespas, as células de cria melhor estocadas são destinadas preferencialmente à progênie feminina (Molumby 1997, Peruquetti & Del Lama 2003, Buschini 2007). Dessa forma, espera-se que a presença do macho guarda favoreça a produção de filhas, pois as células de cria recebem mais presas, o que asseguraria seu sucesso reprodutivo (Brockmann 1988, Brockmann & Grafen 1989). A produção de filhas em células com maior quantidade de alimento também seria vantajosa para a fêmea, já que fêmeas com tamanho corporal maior do que a média são mais fecundas e vigorosas (Molumby 1997, Peruquetti & Del Lama 2003, Buschini 2007). Entretanto, as fêmeas também copulam com machos que patrulham a área de nidificação (Garcia & Adis 1995, Molumby 1997, Peruquetti & Del Lama 2003), que coloca em dúvida o sucesso reprodutivo do macho guarda.

Este estudo descreveu o comportamento reprodutivo de *Trypoxylon (Trypargilum) nitidum* e de *Trypoxylon (Trypargilum) lactitarse*, associando o armazenamento de espermatozoides com a frequência de cópulas das duas espécies.

## **Material e Métodos**

**Local de estudo.** As observações foram feitas no Apiário Central da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, Minas Gerais, Brasil), em uma área de nidificação existente há cerca de 10 anos.

**Observações:** No período entre 7:00 e 19:00 horas, de novembro de 2006 a fevereiro de 2007, foram feitas observações diretas do comportamento de machos e fêmeas de *T. lactitarse* e *T. nitidum* durante a nidificação, perfazendo um total de 200 horas. Para as observações de ocorrência de cópulas no interior do ninho foram utilizados ninhos-armadilhas feitos de bambu ou de madeira. Os de bambu foram construídos com gomos de comprimento variável e diâmetro variando de 8 a 12 mm, abertos em uma extremidade e fechados na outra pelo próprio nó. Cada gomo foi seccionado longitudinalmente, produzindo uma abertura com cerca de 3 mm. Esta foi coberta com uma tira de folha plástica transparente, aderida com fita adesiva e coberta com outro pedaço de bambu para evitar a entrada de luz. Os de madeira foram feitos com peças de *Pinus* sp. medindo 200 x 145 x 15 mm, com cavidades de 5, 8 e 10 mm e

profundidade de 80 ou 90 mm, tangenciando a superfície e formando um canal. Sobre cada peça foi colocada uma folha de plástico transparente, aderida com fita adesiva, e coberta com um pedaço de papelão (Fig. 1).



Fig. 1. Peça de madeira com 9 cavidades de 10 x 90 mm, coberta com uma folha plástica, contendo dois ninhos de *T. lactitarse*.

Os indivíduos foram capturados no interior da cavidade, imobilizados e marcados no mesonoto com tinta atóxica. Uma combinação diferente de cores e posições foi utilizada para identificação de cada espécime capturado.

Os ninhos-armadilha foram posicionados sobre suportes instalados na lateral externa de um galpão, protegidos da chuva. Foram distribuídas 29 peças de madeira, cada uma contendo 9 cavidades e 50 ninhos de bambu, totalizando 311 cavidades.

**Transferência de espermatozóides.** Para verificar se fêmeas nidificantes de *T. lactitarse* e *T. nitidum* armazenam sêmen durante o processo de nidificação, foram coletadas cinco fêmeas de *T. lactitarse* e duas de *T. nitidum*. Dessas fêmeas verificou-se a presença ou não de espermatozóides na espermateca e o volume interno dessa estrutura. Havendo armazenamento de espermatozóides e ocorrência de cópulas com outros machos que não o guarda, é esperado que a paternidade do macho guarda seja assegurada através de algum tipo de precedência espermática

(Alcock 1994). As fêmeas coletadas foram dissecadas em tampão cacodilato e para o processamento histológico as espermatecas foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, pós-fixadas em tetróxido de ósmio, desidratadas em concentrações crescentes de etanol e incluídas em resina glicolmetacrilato. Em seguida, cortes de 2 µm foram corados com solução de azul de toluidina–borato de sódio a 1% ou de hematoxilina-eosina. Para fins de comparação, uma fêmea de *T. (Trypoxylon) fabricator* foi analisada da mesma maneira, já que pertence ao outro subgênero do gênero *Trypoxylon*.

As medidas e fotografias foram feitas com auxílio de um microscópio Olympus CX- 40.

## Resultados

**Associação macho-fêmea.** Em *T. lactitarse* a associação entre machos e fêmeas ocorreu em diferentes fases do processo de nidificação. Vários machos se associavam à fêmea durante a fase de inspeção do ninho, mas muitas vezes essa associação era curta, terminando com os dois deixando a cavidade. Em outros casos o macho permanecia no ninho e a fêmea saía para coletar barro ou caçar, e essa associação podia durar até o término da construção do ninho. Isso, porque nem sempre o mesmo macho ficava associado à fêmea durante toda a construção do ninho. Algumas vezes, o macho guarda deixava o ninho e outro tomava sua posição. Em outros momentos foram observados machos lutando pela disputa da posição de guarda.

Em *T. nitidum* não foi observado em que momento da nidificação ocorre associação entre machos e fêmeas. Mas nessa espécie o mesmo macho permaneceu no ninho do início ao término da construção do ninho (n=4).

**Comportamento de guarda.** Em ambas as espécies a guarda do ninho era realizada pelo macho. Na ausência dele a fêmea não saía do ninho, exceto durante o período de deposição de barro. O macho estando ausente na fase de coleta de presas, a fêmea gastava mais tempo compactando as aranhas e deixava o ninho somente após o retorno do macho (n=11). Em *T. lactitarse*, em três casos, após um longo período de tempo (mais de 1 hora) o macho não retornou ao ninho. Então a fêmea realizou a postura, saindo em seguida para coleta de barro e fechamento da célula de cria.

Em *T. lactitarse*, o macho guarda se posicionava no interior do ninho, à frente da célula em provisionamento, com a cabeça voltada para a entrada do ninho. O macho guarda em *T. lactitarse* sai pouco do ninho. Já em *T. nitidum*, o macho deixa o ninho muitas vezes e por longos períodos de tempo, quando a fêmea assume a guarda. Em *T. nitidum*, o macho posiciona-se exatamente na entrada do ninho.

**Cópula e oviposição.** Em *T. lactitarse* as fêmeas copulam freqüentemente (n=15) com machos que patrulham a área de nidificação. Isso ocorre quando elas retornam do campo com aranha ou com barro. Dentro do ninho, antes da oviposição, macho e fêmea tinham uma seqüência de comportamento semelhante ao observado em outras espécies do subgênero (ver Brockmann 1992). Essa seqüência se iniciava imediatamente após a deposição da última aranha, ou após um vôo sem carregamento, e incluía uma cópula e interações entre macho e fêmea, culminando com a oviposição (n=16). Em *T. nitidum* não foram observadas cópulas em momento algum.

**Armazenamento de espermatozoides.** A espermateca de *T. lactitarse* tem tamanho pequeno (diâmetro interno, 40  $\mu\text{m}$ ; n = 5) e não foram observados espermatozoides em seu interior (Fig. 2A). Em *T. nitidum*, a espermateca também possuía diâmetro interno reduzido (diâmetro interno, 40  $\mu\text{m}$ ; SE, n = 2) e havia pequena quantidade de espermatozoides no seu interior (Fig. 2B). Na espermateca da fêmea de *T. (Trypoxylon) fabricator* foi possível observar grande quantidade de espermatozoides e diâmetro interno de 60  $\mu\text{m}$  (n=1) (Fig. 2 C e D).

Analisando-se o diâmetro interno da espermateca em relação ao tamanho da fêmea (largura máxima da cabeça), observa-se que a espermateca de *T. fabricator* é proporcionalmente duas vezes maior que a de *T. nitidum* e quase três vezes maior que a de *T. lactitarse*. Esta possui espermateca relativamente menor (1,3x) que a de *T. nitidum* (Tabela 1).

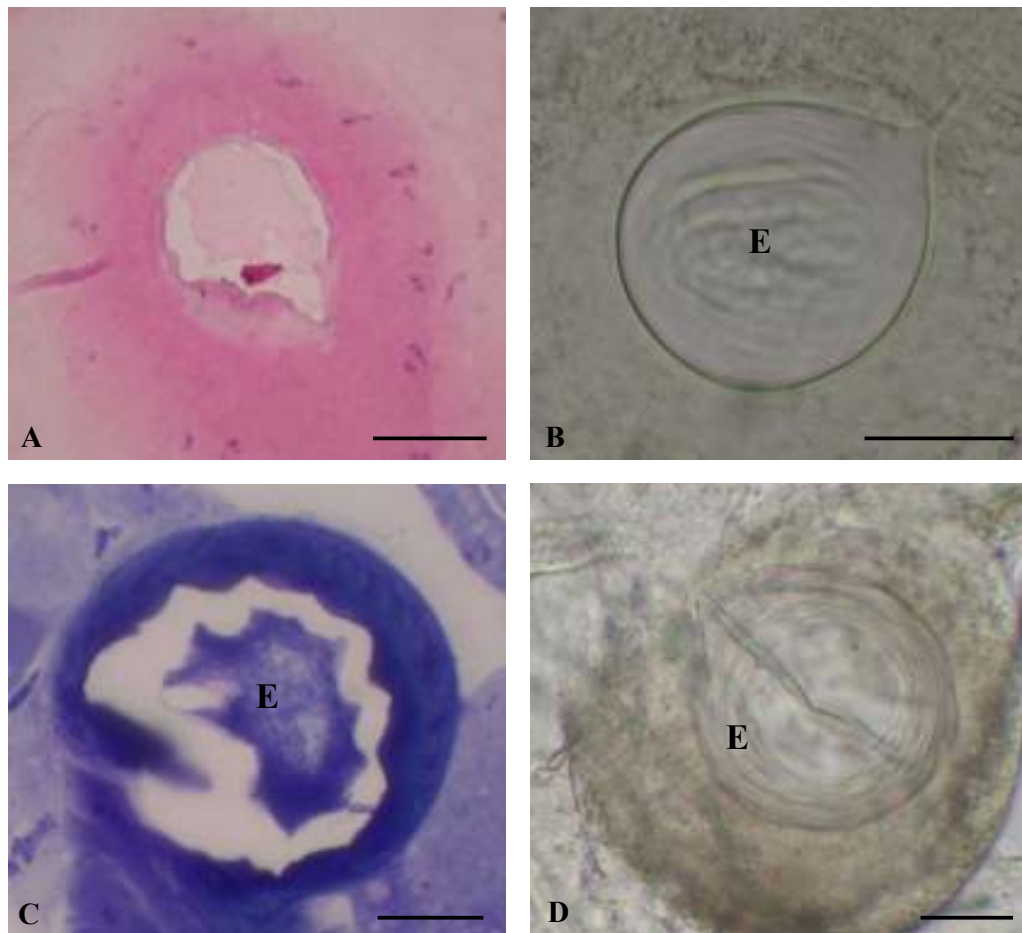


Figura 2. Espermatecas de *Trypoxylon (Trypargilum) lactitarse* (A), *Trypoxylon (Trypargilum) nitidum* (B) e *Trypoxylon (Trypoxylon) fabricator* (C e D). A e C: foto de corte da espermateca, visto ao microscópio de luz. B e D: foto de espermateca inteira vista ao microscópio de luz. Fig. A: espermateca sem espermatozóides. Figs. B-D: Espermatecas com espermatozóides (E). Barras: 20  $\mu$ m. A=1,6mm, B= 2,1mm, C =1,49mm, D= 1,30mm.

Espécie	LMC	Diâmetro interno da espermateca ( $\emptyset$ )	Relação aproximada LMC: $\emptyset$
<i>T. (Trypargilum) lactitarse</i>	3,49 mm <sup>a</sup>	40 $\mu$ m	1:0,011
<i>T. (Trypargilum) nitidum</i>	2,50 mm	40 $\mu$ m	1:0,016
<i>T. (Trypoxylon) fabricator</i>	1,90 mm <sup>b</sup>	60 $\mu$ m	1:0,032

Tabela 1. Espécies analisadas de *Trypoxylon*, relacionando o tamanho da fêmea (largura máxima da cabeça, LMC) com o diâmetro interno ( $\emptyset$ ) da sua espermateca.

Fonte: <sup>a</sup> Camilo & Brescovit (1999); <sup>b</sup> Sakagami *et al.* (1990)

## Discussão

De acordo com o sugerido por Brockmann & Grafen (1989), a guarda do ninho pelo macho em *Trypoxylon* (*Trypargilum*) deve ter evoluído do comportamento de acasalamento para o de defesa do ninho. Só é esperado um investimento significativo do macho se a probabilidade dele ser o pai da progênie feminina for alta. Para a fêmea, os benefícios materiais, como a guarda do ninho, devem ter surgido somente após o aparecimento de mecanismos que pudessem garantir a paternidade ao macho guarda (Simmons 2001).

Apesar de em *T. nitidum* (neste trabalho) e em *T. vagulum* (Coville *et al.* 2000) não terem sido observadas cópulas no local de nidificação, a despeito de inúmeras observações feitas, os machos de outras espécies de *Trypargilum*, como os de *T. lactitarse*, copulam repetidamente com a fêmea antes de cada oviposição (Brockmann & Grafen 1989, Brockmann 1992, Garcia & Adis 1995). É possível então que os machos desse subgênero “guardem” sua parceira a fim de copular com ela no momento mais propício para a fecundação do óvulo (ver Alcock 1994). No entanto, para confirmar essa hipótese, é preciso verificar a ocorrência de precedência espermática em benefício do último macho. Apesar de não terem sido feitos testes para verificar se há ou não precedência espermática, a partir das observações feitas em *T. lactitarse* sugere-se que ela é bastante provável nesta espécie, devido ao curto intervalo de tempo existente entre a última cópula e a oviposição. É interessante ressaltar que, em *T. politum*, a presença do macho não influencia a decisão da fêmea de fecundar ou não o ovo (Brockmann & Grafen 1989). Entretanto, a estreita associação do macho com a fêmea, antes da oviposição, que foi observada em *T. lactitarse* (neste trabalho) e em várias outras espécies de *Trypargilum* (Brockmann & Grafen 1989, Brockmann 1992), pode ser um estímulo necessário para que o macho tenha maiores chances de ter seus espermatozoides utilizados no momento da oviposição.

A despeito dos benefícios, como o recebimento de quantidade suficiente de espermatozoides viáveis, o aumento da produção de ovos, da fertilidade e da produção de prole, que as fêmeas podem adquirir com cópulas múltiplas, esse comportamento pode ter um alto custo, como aquisição de doenças e aumento do risco de predação (Walker 1980, Thornhill & Alcock 1983, Choe & Crespi 1997, Yasui 1998, Arnqvist & Nilsson 2000). Uma das hipóteses sugeridas para explicar a

existência de cópulas múltiplas nas fêmeas de *Trypoxylon* (*Trypargilum*) prediz que elas ocorreriam para repor o estoque de espermatozóides gasto em oviposições anteriores (Simmons 2001). Esta hipótese é corroborada pelos dados obtidos neste trabalho. Mesmo que a fêmea de *T. lactitarse* armazene espermatozóides em sua espermateca, sua luz é muito reduzida (Martins *et al.* 2004). Assim, a quantidade de espermatozóides armazenada seria muito pequena, podendo ser consumida em apenas uma oviposição. Por isso, nessa espécie, cópulas múltiplas são necessárias para que espermatozóides estejam disponíveis antes de cada oviposição. A decisão da fêmea de fecundar ou não o óvulo deve depender de estímulos ambientais, como observado em outras espécies de Hymenoptera (Strohm & Linsenmair 1997, Martins *et al.* 1999, Buschini 2007). Apesar de a luz da espermateca da fêmea de *T. nitidum* também ser reduzida, ela é relativamente maior que a de *T. lactitarse*. Talvez por isso não ocorram cópulas imediatamente antes da postura. Assim, as condições que favoreceriam a ocorrência de macho guarda em espécies como *T. nitidum* e *T. vagulum* parecem ser mais complexas. Contudo, espera-se que haja algum tipo de reconhecimento entre os casais formados, como observado em *T. rogenhoferi* (Garcia & Adis 1995) e talvez ocorra precedência espermática. É interessante notar que no grupo *fabricator* (subgênero *Trypoxylon*), no qual os machos ficam nos ninhos, mas não atuam como guardas, não há registros de cópulas múltiplas (Sakagami *et al.* 1990, Peruquetti & Del Lama 2003). Na fêmea de *T. fabricator* analisada, observou-se espermateca com grande volume e grande quantidade de espermatozóides armazenados. Com isso, é possível que haja em *Trypoxylon* uma relação entre capacidade de armazenamento de espermatozóide e ocorrência do comportamento de guarda dos machos. No entanto, para confirmar essa hipótese são necessários estudos morfológicos e comportamentais com outras espécies de *Trypargilum*.

## Referências

- Alcock, J. 1994. Postinsemination associations between males and females in insects: The mate-guarding hypothesis. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 39:1-21.
- Alexander, R.D. & G. Borgia. 1979. On the origin and basis of the male-female phenomenon. In: *Sexual Selection and Reproductive Competition in Insects* (Blum MS, Blum NA, eds). New York, Academic Press.
- Alexander, R.D., D.C. Marshall & J.R. Cooley .1997. Evolutionary perspectives in insect mating. In: *The evolution of mating systems in insects and arachnids* Choe JC & Crespi BJ). Cambridge, Cambridge University Press.
- Arnqvist, G. & T. Nilsson. 2000. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Anim. Behav.* 60: 145-164.
- Arnqvist, G. 1989. Multiple mating in a water strider: mutual benefits or intersexual conflict? *Anim. Behav.* 38: 749–756.
- Bourke, A.F.G. 1997. Hymenopteran sex allocation. *Trends Ecol. Evol.* 12: 488-489.
- Brockmann, H.J. & A. Grafen. 1989. Mate conflict and male behaviour in a solitary wasp, *Trypoxylon (Trypargilum) politum* (Hymenoptera: Sphecidae). *Anim. Behav.* 37: 232-255.
- Brockmann, H.J. 1988. Father of the brood. *Nat. Hist.* 97: 32-37.
- Brockmann, H.J. 1992. Male behavior, courtship 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 arachnids* (Choe JC, Crespi BJ eds.). London, Cambridge Univ. Press.
- Buschini, M.L.T. 2007. Life-history and sex allocation in *Trypoxylon* (syn. *Trypargilum*) *lactitarse* (Hymenoptera; Crabronidae). *J. Zool. Syst. Evol. Res.* doi: 10.1111/j.1439-0469.2006.00405.x
- Camillo, E. & A.D. Brescovit. 1999. Aspectos biológicos de *Trypoxylon (Trypargilum) lactitarse* Saussure e *Trypoxylon (Trypargilum) rogenhoferi* Kohl (Hymenoptera: Sphecidae) em ninhos-armadilhas, com especial referência a suas presas. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 28: 251-262.
- Choe, J.C. & Crespi, B.J. 1997. *The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids*. Cambridge University Press: Cambridge.

- Coville, R.E. & C. Griswold. 1983. Nesting biology of *Trypoxylon xanthandrum* in Costa Rica with observations on its spider prey (Hymenoptera: Sphecidae; Araneae: Senoculidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 56: 205-216.
- 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. & 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. 1979. Biological observations on *Trypoxylon (Trypargilum) orizabense* Richards in Arizona (Hymenoptera: Sphecidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 52: 613-620
- Coville, R.E. 1981. Biological observations on three *Trypoxylon* wasps in the subgenus *Trypargilum* from Costa Rica: *T. nitidum schulthessi*, *T. saussurei*, and *T. lactitarse* (Hymenoptera: Sphecidae). *Pan-Pac. Entomol.* 57: 332-340.
- Coville, R.E. 1982. Wasps of the genus *Trypoxylon* subgenus *Trypargilum* in North America. *Univ. California Public. Entomol.* 97:1-147.
- 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: 28-48
- 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.
- Daly, M. 1978. The cost of mating. *Am. Nat.* 112: 771-774.
- 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.
- Gerber, H.S. & E.C. Klostermeyer. 1970. Sex control by bees: a voluntary act of egg fertilization during oviposition. *Science* 82-84.
- Hamilton, W.D. 1964. The genetical evolution of social behaviour. II. *J. Theor. Biol.* 7: 17-52.
- Helversen, D.V. & O.V. Helversen. 1991. Pre-mating sperm removal in the bush cricket *Metaplastes ornatus* Ramme 1931 (Orthoptera, Tettigonidea, Phaneropteridae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 28: 391-396.
- Hook, A.W. 1984. Notes on the Nesting and Mating Behavior of *Trypoxylon (Trypargilum) spinosum* (Hymenoptera: Sphecidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 57: 534-535.

- Hurst, G.D.D., R.G. Sharpe, A.H. Broomfield, L.E. Walker, T.M.O. Majerus, I.A. Zakharov & M.E.N. Majerus. 1995. Sexually transmitted disease in a promiscuous insect, *Adalia bipunctata*. *Ecol. Entomol.* 20: 230–236.
- Martins, G.F., J.E. Serrão, K.S. Furieri. 2004. Notes on the spermatheca of Vespidae and Sphecidae (Hymenoptera). *Sociobiology* 45:1-9.
- Martins, R.P., A. Yasmine, F.A. Silveira & S.A. West. 1999. Seasonal variation in the sex allocation of a neotropical solitary bee. *Behav. Ecol.* 4: 401-408.
- 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.
- Paetzel, M.M. 1973. Behavior of the male *Trypoxylon rubrocinctum* (Hymenoptera: Sphecidae). *Pan-Pac. Entomol.* 49: 26-30.
- Parker, G.A. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biol. Rev.* 45: 525-567.
- Parker, G.A. 1979. Sexual selection and sexual conflict. In: *Sexual Selection and Reproductive Competition in Insects* (Blum MS, Blum NA, eds.). New York, Academic Press.
- Peruquetti, R.C. & M.A. Del Lama. 2003. Sex allocation and sex-dependent selection for body size in *Trypoxylon rogenhoferi* Kohl (Hymenoptera, Sphecidae). *Rev. Bras. Entomol.* 47: 581-588.
- Rowe, L. 1994. The costs of mating and mate choice in water striders. *Anim. Behav.* 48: 1049–1056.
- Sakagami, S.F., N. Gobbi, & R. Zucchi. 1990. Nesting biology of a quasisocial sphecid wasp *Trypoxylon fabricator* I. Nests and inhabitants. *Jpn. J. Entomol.* 58: 846-862.
- Simmons, L.W. 2001. *Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects*. Princeton, Princeton University Press, 434pp.
- Strohm, E. & K.E. Linsenmair. 1997. 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 triangulum* F. (Hymenoptera: Sphecidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 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.

- Thornhill, R. & J. Alcock. 1983. *The Evolution of Insect Mating Systems*. Cambridge, Harvard University Press, 547pp.
- Walker, W.F. 1980. Sperm utilization strategies in nonsocial insects. *Am. Nat.* 115: 780–799.
- Watson, P.J., G. Arnqvist. & R.R. Stallman. 1998. Sexual conflict and the energetic costs of mating and mate choice in water striders. *Am. Nat.* 151: 46–58.
- West, S.A. & B.C. Sheldon. 2002. Constraints in the evolution of sex ratio adjustment. *Science* 295: 1685-1688.
- West-Eberhard, M.J., J.W. Bradbury, N.B. Dvornick, P.-H. Gouyon, P. Hammerstein, B. König, G.A. Parker, D.C. Queller, N. Sachser, T. Slasvold, F. Trillmich & C. Vogel. 1987. Conflicts between and within the sexes in the sexual selection. In: *Sexual Selection: Testing the Alternative*. (Bradbury JW, Anderson MB, eds). New York, Wiley.
- Wing, S.R. 1988. Cost of mating for female insects: risk of predation in *Photinus collustrans* (Coleoptera, Lampyridae). *Am. Nat.* 131: 139–142.
- Yasui, Y. 1998. The “genetic benefits” of female multiple mating reconsidered. *Trends Ecol. Evol.* 13: 246–250.

### 3. CONCLUSÕES GERAIS

Com base nas observações conclui-se que em *Trypoxylon* (*Trypargilum*):

- O sistema reprodutor é semelhante ao das abelhas Colletinae, corroborando hipóteses filogenéticas que indicam os Crabronidae como grupo-irmão das abelhas.
- Os espermatozóides são produzidos continuamente nos testículos de machos adultos de *T. lactitarse*, o que está diretamente relacionado à alta atividade sexual desses machos durante toda a fase adulta.
- A morfologia da vesícula seminal aparentemente permite que seja dosada a quantidade de espermatozóides eliminada em cada cópula, o que está diretamente associado às múltiplas cópulas desses machos, que ocorrem em curto intervalo de tempo.
- A ausência de espermatozóides na espermateca, que também possui tamanho reduzido, e as cópulas antes da oviposição, em *T. lactitarse*, devem garantir o sucesso reprodutivo do macho guarda.
- O comportamento de guarda do ninho pelo macho pode ser favorecido pela incapacidade de armazenamento de espermatozóides pela fêmea, caso ocorra precedência espermática que dê vantagem ao último macho a copular.