

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Efeitos do Ácido Bórico na Mortalidade e na Expressão de Esterase em  
*Camponotus atriceps* Smith (Hymenoptera: Formicidae)**

*Narcisa Silva Soares*

Orientadora: Dra Ana Maria Bonetti

Monografia apresentada à Coordenação  
do Curso de Ciências Biológicas, da  
*Universidade Federal de Uberlândia*, para  
a obtenção do grau de Bacharel em  
Ciências Biológicas.

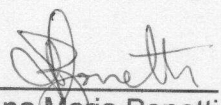
Uberlândia – MG  
Fevereiro -2003

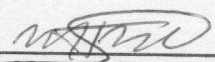
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

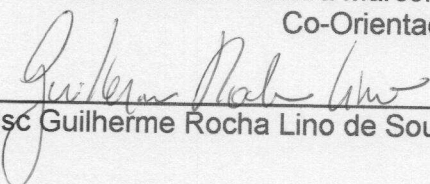
Efeitos do Ácido Bórico na Mortalidade e na Expressão de Esterase em  
*Camponotus atriceps* Smith (Hymenoptera: Formicidae)

*Narcisa Silva Soares*

Aprovado Pela Banca examinadora em  
14/10/2003 Nota 100,00

  
\_\_\_\_\_  
Dr<sup>a</sup> Ana Maria Bonetti  
Orientadora

  
\_\_\_\_\_  
Msc Marcus Teixeira Marcolino  
Co-Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Msc Guilherme Rocha Lino de Souza

Uberlândia – MG  
Fevereiro -2003



Narcisa Silva Soares  
Campus Umuarama, Bloco 2E, Sala 2E 33  
Uberlândia, MG, Brasil  
38400-902

Efeitos do Ácido Bórico na Mortalidade e na Expressão de Esterase em  
*Camponotus atriceps* Smith (Hymenoptera: Formicidae)

*NARCISA S. SOARES*

Laboratório de Genética do Comportamento, Instituto de Genética e Bioquímica,  
Universidade Federal de Uberlândia

RESUMO – As formigas urbanas vêm causando, ao homem, incômodo e prejuízos econômicos, devido ao fato dessas formigas nidificarem em diferentes locais das habitações. Vários grupos de inseticidas vem sendo utilizados para seu controle, porém, os resultados não são satisfatórios e, muitas vezes, o que se verifica é a seleção de indivíduos resistentes. Nesse estudo, a toxicidade oral do ácido bórico e sua influência na atividade esterásica em *Camponotus atriceps* (Smith), foram testadas em laboratório. As formigas foram submetidas a iscas de solução de sucrose com várias concentrações de ácido bórico. Algumas das vantagens de se utilizar iscas de ácido bórico como inseticida, incluem sua eficiência em baixas concentrações, a segurança para outros organismos e minimização dos prejuízos ambientais. Os resultados da atividade esterásica foram comparados nos grupos Experimentais e Controle. Todas as concentrações foram significativas na redução da colônia sendo que, a partir de 0,1M ( $\leq 1\%$ ) a taxa de sobreviventes foi igual a zero. Observou-se, também que, em todas as concentrações, o ácido bórico afetou primeiro as operárias, o que pode ser atribuído ao próprio comportamento de forrageamento. O perfil eletroforético dos dois grupos revelou, com diferença, a presença da banda correspondente à EST-2 nos indivíduos tratados com ácido bórico. Os resultados indicam que o ácido bórico influencia a expressão gênica dessa esterase. Não podemos afirmar, ainda, se a Esterase 2 está ou não, associada ao mecanismo de resistência ao inseticida.

PALAVRAS-CHAVE: iscas, isoenzima, formigas urbanas.



As formigas do gênero *Camponotus* pertencem à subfamília Formicinae e caracterizam-se por liberarem ácido fórmico, como defesa. Podem ser encontradas em grande variedade de *habitats*, com algumas espécies, dominantes em determinados locais (Wilson 1971). Nos últimos anos, algumas espécies dessas formigas vêm apresentando um processo de dispersão para ambientes urbanos. Nos Estados Unidos, elas são consideradas pestes estruturais (Fowler 1990, Fowler *et al.* 1991).

No Brasil, a espécie *Camponotus atriceps* (Smith) vêm causando, ao homem, incômodo e prejuízos econômicos, devido ao fato dessas formigas nidificarem em diferentes locais das habitações, gerando danos em aparelhos eletro-eletrônicos e estruturas de madeiras. Na apicultura e em ambientes hospitalares provocam, também, sérios danos, sendo por isso consideradas pragas (Marcolino *et al.* 2000, Peçanha 2000).

Populações unicloniais, alta taxa de reprodução e poliginia, associados à variabilidade da espécie, são aspectos que contribuem para dificultar o controle dessas formigas (Bueno & Campos-Farinha 1999). Em relação a controle, o que tem sido feito é a aplicação intensiva de defensivos químicos, como os inseticidas tradicionais (aerossóis e pó seco), os quais acentuam o processo de fragmentação das colônias, provocando crescimento desordenado da população, com seleção dos indivíduos resistentes aos inseticidas (Silva & Loeck 1999).

Segundo Selander (1976) o estudo da isoenzima esterase é, freqüentemente, utilizado para detectar a freqüência de variação genética dentro de populações. Nos insetos, as esterases estão entre as enzimas mais polimórficas, passando por grandes mudanças durante metamorfose e reprodução. As esterases são determinadas geneticamente por vários loci e participam da hidrólise dos ésteres, de peptídeos, de amidas e de haletos. Essas enzimas são divididas em quatro grupos: carboxilesterases, arilesterases, colinesterases e acetilesterases, de acordo com resposta frente a diferentes substratos e inibidores. Estão amplamente distribuídas na natureza e desempenham funções importantes. Nos insetos estão relacionadas com atividades fisiológicas, como a regulação

dos níveis de Hormônio Juvenil (Kort & Granger 1981), processos digestivos (Kapin & Ahmad 1980) e degradação de inseticidas (Motoyama & Dauterman 1974). Uma das hipóteses propostas para explicar a ocorrência da resistência à inseticidas baseia-se em mutação no sítio ativo da enzima, levando ao aumento de sua atividade e em amplificação gênica (Rits 1997).

Os principais grupos de inseticidas utilizados são: organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides e inibidores do desenvolvimento dos insetos. Esses últimos estão divididos em dois grupos: hormonais e não hormonais. Inibidores hormonais são análogos de hormônios dos insetos e provocam atraso no desenvolvimento das larvas e sua morte. Os não hormonais agem na formação do exoesqueleto dos insetos (Ferreira 1999).

O ácido bórico tem sido utilizado no controle de pragas, para formigas e baratas, desde o início do século XX. Mais recentemente, iscas com ácido bórico têm sido aplicadas para formigas (Rust 1986). Newton (1980) realizou, com sucesso, o controle de formigas *Monomorium pharanonis* (L.) em laboratório e no campo, com concentrações de 5 e 7 % de ácido bórico. Olkowski *et al* (1991) recomendam 2 % de ácido bórico em isca com água e açúcar, para formigas Argentinas *Linepithema humile* (Mayr).

Klotz & Moss (1996) em estudos de controle com formigas carpinteiras da Florida, *Camponotus floridanus* (Buckley), utilizaram iscas (solução de sucrose) com ácido bórico em várias concentrações, de 0,02 a 0,5M, e verificaram que concentrações abaixo de 1% (0,16M) são efetivas na mortalidade. A eficácia encontrada para as iscas de ácido bórico, em formigas, pode ser resultado da quantidade de iscas ingeridas pela colônia, pois devido a sua baixa concentração, os resultados da mortalidade são lentos.

Comercialmente, iscas para formigas com ácido bórico como ingrediente ativo, utiliza concentrações  $\geq 5\%$ . Niban (Nisus Corporation, Rockford, TN) e Bush-Whacher (Bethurum Research and Development, Galveston, TX) são iscas granulares de 5 e 18% de ácido bórico, respectivamente. Com o desenvolvimento de iscas líquidas, com baixa concentração de ácido



bórico, já se encontra no mercado internacional iscas como Advance Liquid Ant Bait (Whitmire-Gen, St. Louis, MO) e Dr. Moss's Liquid Ant Bait System (T.J. Eaton, Twinsburg, OH) que usam 1% de ácido bórico em solução de sucrose (Wegner 1998).

Esse estudo verificou a toxicidade oral das iscas de ácido bórico na redução de colônias de *C. atriceps*, verificando sua eficácia como inseticida e sua influência sobre a atividade da enzima esterase.

### **Material e Métodos**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Genética do Comportamento, da Universidade Federal de Uberlândia, onde são mantidas colônias de *Camponotus atriceps* (Smith) provenientes de várias localidades do Brasil (Minas Gerais, Goiás e São Paulo).

Foram coletados 300 indivíduos de colônias diferentes, os quais foram separados em bandejas de 20 x 28 cm, contendo em cada uma 15 soldados e 15 operárias. As formigas foram mantidas a uma temperatura média de 25°C e 80% de umidade relativa (UR) ficando desprovidas de alimento nas primeiras 24 horas. Após esse período, foram tratadas com iscas de ácido bórico (ICN Biomedicals, Aurora, OH) em solução de sucrose (água deionizada a 10% de sucrose), em cinco concentrações: 0.02, 0.04, 0.1, 0.16 e 0.24M, respectivamente e um Controle, o qual constou de um grupo de igual número de formigas que recebeu solução de sucrose sem ácido bórico. Cada experimento foi repetido duas vezes.

As observações de mortalidade foram anotadas em 25 dias sucessivos, prazo esse adequado para testar a eficiência e resistência a um inseticida, em formigas, segundo indicação de Bueno, 2002 (comunicação pessoal). Para a análise da taxa de sobrevivência usou-se o Test Log Rank - software GrafPad Prisma 3.0.

Foram comparados, ainda, os resultados da atividade esterásica nos grupos Experimental e Controle.

Para análise da atividade esterásica, em gel de eletroforese, os indivíduos foram homogenizados em *pool* de duas operárias e dois soldados (ambas fêmeas), usando 400 µL de tampão de amostra (Tris-HCl 0,1M pH 8,8 com glicerol 10% e azul de bromofenol 0,01% ) centrifugados a 15000rpm por 15 min a 4°C. O sobrenadante das amostras foi aplicado em gel de poliacrilamida, com empilhamento 4%(Tris- HCl 0.5M pH 6.8, Bis-acrilamida, 1.6:30) e de separação 10% (Tris-HCl 1.5M pH 8,8, Bis-acrilamida, 0.8:30). A eletroforese foi processada a 4°C, 100V, 20mA, por 2 h. Após a corrida, o gel foi incubado em tampão fosfato de sódio pH 6,2 por 30min e corado com Fast Blue RR Salt em presença dos substratos alfa e beta naftil-acetato por 45 min, em ausência de luz.

### **Resultados e Discussão**

Uma ação tóxica lenta é um dos pré-requisitos para que iscas, no controle de formigas, sejam efetivas (Stringer *et al.* 1964), pois assim os ingredientes ativos da isca poderão ser distribuídos entre os membros da colônia.

A maioria das formigas que nidificam em áreas urbanas, tem um regime alimentar onívoro, apresentando preferência por substâncias doces, como honeydew (excreções açucaradas de homópteros) e néctar em ambientes naturais (Hölldobler & Wilson 1990). Segundo Tennant & Porter (1991), a sucrose é, geralmente, predominante no honeydew e, também, é um componente importante do néctar (Gottsberger *et al.* 1985). A solução de sucrose é bastante atrativa para formigas e pode funcionar como um veículo para o inseticida, levando a droga para dentro da colônia (Baker *et al.* 1985, Hooper & Rust 2000).



A figura 1 mostra que as iscas líquidas de ácido bórico apresentaram toxicidade e efeito significativo (Tabela 1) na redução de colônias de *C. atriceps*, quando comparado ao Controle. No controle (n = 60) a porcentagem de sobreviventes após os 25 dias de observação foi maior que 90%, enquanto que, a partir da dose de 0,1M ( $\leq 1\%$ ) a taxa de sobreviventes nos grupos Experimentais, foi igual a zero. Segundo Klotz *et al.* (2000) iscas com alta porcentagem de ácido bórico reduzem o número de trofalaxia (troca de alimento) e causa repelência pela isca, tornando-a, provavelmente, impalatável. A maior concentração testada, 0,24M (1,5%), não foi rejeitada, obtendo-se com ela, a menor sobrevivência, com mediana de 5 dias (Tabela 1). Esses resultados são consistentes com os encontrados por Klotz *et al.* (1998) em que concentrações de ácido bórico  $\leq 1\%$  em solução de sucrose 10%, para formigas Argentinas, *L. humile* (Mayr), promoveram alta mortalidade ( $> 90\%$ ). Porém a velocidade de mortalidade para as formigas Argentinas foi maior do que para as formigas carpinteiras, *C. atriceps* (Smith), em concentrações similares de ácido bórico. Essa diferença pode ser devida ao tamanho das formigas carpinteiras, as maiores dentre as urbanas (Hölldobler & Wilson 1990), quando comparadas às Argentinas.

Observou-se, também, que em todas as concentrações, o ácido bórico afetou primeiro as operárias. Por exemplo, na concentração de 0,1M, em 5 dias havia apenas 50% de operárias sobreviventes, enquanto que, para soldado esse índice foi atingido em 10 dias (Tabela 1). Essa diferença pode ocorrer em função do comportamento de forrageamento dessas formigas em laboratório, onde as operárias buscam mais alimento do que os soldados (Marcolino 1999) e assim, são as primeiras a entrarem em contato com o ácido bórico e acumulá-lo no organismo. Outra hipótese baseia-se na massa corporal, já que, em média, o peso seco do soldado de *C. atriceps* é três vezes maior do que o da operária.

O perfil eletroforético da atividade esterásica em presença dos substratos alfa e beta naftil acetato está representado na Figura 2. A região denominada como EST-2 esta presente nos indivíduos tratados com as diferentes concentrações de ácido bórico, nas duas repetições. O grupo

Controle não apresentou a Esterase 2. As Esterases Est 1 e Est 3 ocorreram em ambos os grupos (Controle e Experimental). Essa Esterase diferencial (Est 2) pode ter sido induzida pelo ácido bórico. Entre os insetos que apresentam resistência à inseticidas, ocorrem elevados níveis de esterases, tanto em número quanto em intensidade, as quais são utilizadas para realizarem a desintoxicação de grupos de inseticidas (Devonshire 1989). Baseado nos resultados de mortalidade e na ocorrência da Esterase EST-2 nos grupos Experimentais, essa pode estar ligada a algum processo de resposta ao ácido bórico, sendo um deles na degradação, mas não, necessariamente, para conferir resistência, já que todos os indivíduos foram susceptíveis ao veneno, com 25 dias de utilização.

O ácido bórico apresentou várias vantagens no controle de formigas. As iscas são efetivas em baixas concentrações, gerando aumento em seu consumo, distribuição completa do ácido bórico e conseqüentemente, a morte da colônia, além de reduzir a quantidade de inseticida, abaixando o custo do ingrediente ativo.

Há, ainda, poucas informações sobre modo de ação do ácido bórico nos insetos. Tem sido observado que íons de boro formam fortes complexos com grupos de açúcares e álcool, como o inositol e outros grupos orgânicos funcionais. É proposto que o boro possa estar envolvido na ruptura intercelular pois solução saturada de ácido bórico causa dissociação celular (Goodrich 1942 *apud* Klotz *et al.* 2000).

A partir de nossos resultados podemos concluir que o ácido bórico é eficiente no combate às formigas *C. atriceps*, a partir da dosagem de 0,1M, porém não foi possível associar a ocorrência de Esterases ao mecanismo de resistência ao ácido bórico. Pode ser que, em formigas, esse inseticida esteja relacionado ao comprometimento da integridade tissular, assim como ocorre em outros insetos.



### Literatura citada

- Baker, T. C., S. E. Van Vorhis Key & L. K. Gaston. 1985.** Bait-preference tests for the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.* 78: 1083-1088.
- Bueno, O. C. & A. E. C. Campos-Farinha. 1999.** As Formigas domésticas, p. 135-180. *In* F. A. M. Mariconi (ed.), *Insetos e outros invasores de residências*, vol. 6. Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- Devonshire, A. L. 1989.** The role of electrophoresis in the biochemical detection of insecticide resistance, pp. 363-374. *In* H. D. Loxdale and J. D. Hollander (eds.), *Electrophoretic studies on agricultural pests*. Clarendon, Oxford.
- Ferreira, W. L. B. 1999.** Inseticidas de uso domiciliar e controle de vetores de doenças, pp. 403-452. *In* F. A. M. Mariconi (ed.), *Insetos e outros invasores de residências*, vol. 6. Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- Fowler, H. G., L.C. Forti, C. R. F. Brandão, J. H. C. Delabie & H. L. Vasconcelos. 1991.** Ecologia nutricional de formigas, p. 131-223. *In* A.R. Panizzi & J. R.P. Parra (eds.), *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. Editora Manole Ltda, São Paulo, SP.
- Fowler, H. G. 1990.** Carpenter ants (*Camponotus* sp): pest status and human perception. *In* R. K. Vander Meer, K. Jaffe and A. Cedeno (eds.), *Applied myrmecology, a world perspective*. Westview Press, Boulder, CO.
- Gottsberger, G., J. Schrauwen & H. F. Linskens. 1984.** Amino acids and sugars in nectar and their putative evolutionary significance. *Plant Syst. Evol.* 145: 55-77.
- Hölldobler, B. & E. O. Wilson. 1990.** *The ants*. Belknap, Cambridge, MA.
- Hooper, L. M. & M. K. Rust. 2000.** Oral Toxicity of Abamectin, Boric Acid, Fipronil and Hydramethylnon to laboratory colonies of Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.* 93: 858-864.

- Kapin, M. A. & S. Ahmad. 1980.** Esterases in larval tissues of gypsy moth *Lymantria dispar* (L): Optimum assay conditions, quantification and characterization. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 10: 331-337.
- Klotz, J. H. & J. Moss. 1996.** Oral Toxicity of a Boric Acid – Sucrose Water Bait to Florida Carpenter Ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Entomol. Sci.* 31: 9-12.
- Klotz, J. H., D. H. Oi, K. M. Vail, and D. F. Williams. 1996.** Laboratory evaluation of a boric acid liquid bait on colonies of *Tapinoma melanocephalum*, Argentine ants and Pharoah ants (Hymenoptera:Formicidae). *J. Econ. Entomol.*89:673-677.
- Klotz, J. H., L. Greenburg & E. C. Venn. 1998.** Liquid boric acid bait for control of the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.* 91: 910-914.
- Klotz, J. H., L. Greenburg, C. Amrhein & M. K. Rust. 2000.** Toxicity and repellency of borate-sucrose water baits to Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.* 93:1256-1258.
- Kort, C. A. D. & N. A. Grandner. 1981.** Regulation of the juvenile hormone titer. *Ann. Rev. Entomol.* 26: 1-28.
- Marcolino, M. T. 1999.** Estudos genéticos e comportamentais de formigas carpinteiras *Camponotus atriceps* Smith (Hymenoptera: Formicidae). Tese de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- Marcolino, M. T., M. A. M. Brandeburgo & W. P. Oliveira Júnior. 2000.** Aspectos comportamentais da interação entre formigas *Camponotus atriceps* SMITH (Hymenoptera, Formicidae) e abelhas africanizadas *Apis mellifera* (L.) (Hymenoptera, Apidae). *Naturalia.* 25:321-330.
- Motoyama, M. & N.C. Dauterman. 1974.** The role of non-oxidative metabolism in organophosphorus resistance. *Journal Agr. Food. Chem.* 22: 350-355.
- Newton, J. 1980.** Alternatives to chlordecone for Pharoah's ant control. *International Pest Control* 22: 112-114.



- Olkowski, W., S. Daar, & H. olkowski. 1991.** Common-sense pest control. Taunton Press, Newton, CT.
- Peçanha, M. P. 2000.** Formigas como vetor de propagação bacteriana no conjunto hospitalar de Sorocaba – SP. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro.
- Rits, F. R. C. 1997.** Padrão de esterase em *Megaselia scalaris*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de São Paulo, São José do Rio Preto.
- Rust, M. K. 1986.** Managing household pests, pp. 335-368. In G. W. Bennentt and J. M. Owens (eds.), Advances in urban pest management. Van Nostrand Reinhold, New York, NY.
- Selander, R. K. 1976.** Genetic variation in natural populations. In F. J. Ayala (ed.), Molecular Evolution. Sinauer Associates, Inc., Suderland, Massachusetts.
- Siegfried, B. D., J. G. Scott, R. T. Roush, & B. C. Zeichner. 1990.** Biochemistry and genetics of chlorpyrifos resistance in the German cockroach, *Blattella germanica* L., pestic. Biochem. Physiol. 38:110-121.
- Silva, E. J. & A. E., Loeck. 1999.** Ocorrência de formigas domiciliares (Hymenoptera: Formicidae) em Pelotas - RS. Rev. Bras. Agron. 5: 220-224.
- Stringer, C. E. Jr., C. S. Logfren & F. J. Bartlett. 1964.** Imported fire ant toxic bait studies: evaluation of toxicants. J. Econ. Entomol. 89: 134-137.
- Wilson, E. O. 1971.** The insects societies. Belknap Press of Havard University Press, Cambridge, Mass.
- Wegner, G. 1998.** What to expect from drinkable ant baits. Pest Control 66: 48-50.

Tabela 1. Comparação do Qui-quadrado das curvas de sobrevivência em *C. atriceps*, entre o controle e cada grupo experimental testado com isca de ácido bórico.

Concentração Molar (%)	Sobrevivência Mediana (dias)			No. formigas	X <sup>2</sup> Qui-quadrado	p
	Operária	Soldado	Total			
0,02 (0,13)	25	>25	> 25	60	13,51	< 0,001
0,04 (0,25)	13	>25	19,5	60	46,64	< 0,0001
0,1 (0,63)	5	10	7	60	121,6	< 0,0001
0,16 (1,0)	5,5	12,5	7	60	142,6	< 0,0001
0,24 (1,5)	4,5	8	5	60	141,1	< 0,0001



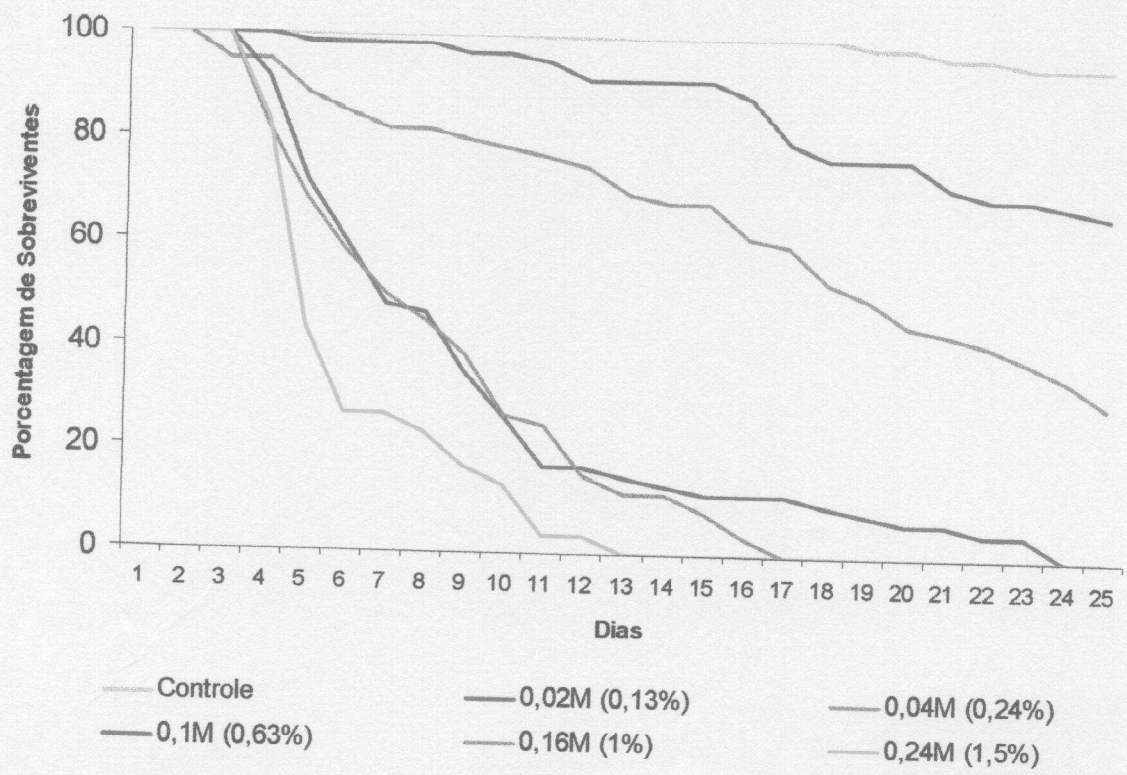


Figura 1. Porcentagem de sobreviventes de *C. atriceps* alimentadas com iscas de ácido bórico em várias concentrações, em condições de laboratório.

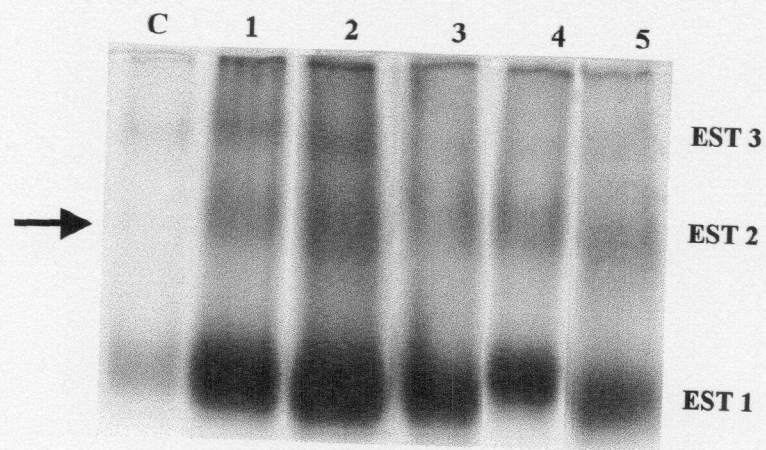


Figura 2. Perfil eletroforético de Esterase em *C. atriceps*, nos grupos Controle e Tratados com iscas de ácido bórico:

Grupo 1: tratado com ácido bórico 0,16M

Grupo 2: tratado com ácido bórico 0,24M

Grupo 3: tratado com ácido bórico 0,1M

Grupo 4: tratado com ácido bórico 0,04M

Grupo 5: tratado com ácido bórico 0,02M

Grupo C: Controle

A seta indica a esterase diferencial. Substratos:  $\alpha$  e  $\beta$  naftil acetato. Gel de poliacrilamida 10%.



## Instruções aos Autores

Artigos originais, que representem contribuição significativa para o conhecimento da Entomologia podem ser aceitos, desde que não estejam publicados ou submetidos a outra revista. Os manuscritos podem ser encaminhados em português, inglês ou espanhol, sendo que o emprego de outros idiomas ficará a critério da Comissão Editorial. A decisão do aceite do manuscrito para publicação se pautará nas recomendações dos editores-adjuntos e revisores *ad hoc*. Os autores devem obrigatoriamente ser sócios da SEB com o pagamento da anuidade em dia.

Na elaboração do trabalho siga as seguintes normas:

1. Faça duas páginas de rosto. Na primeira, indique no canto direito superior o nome e endereço completos do autor a quem enviar a correspondência. Abaixo coloque o título do trabalho em letras minúsculas (apenas a inicial de cada palavra em maiúsculo); nomes científicos deverão ser em minúsculo e *italico*. Use apenas o nome do autor classificador do inseto e não use o ano. Acrescente a ordem e a família para as espécies de artrópodos. Abaixo do título, nome do(s) autor(es) do trabalho em maiúsculo pequeno (*small capitals*), usando apenas o primeiro nome e o sobrenome de cada autor por extenso. Abaixo do nome dos autores, mencione a instituição e endereço completo de cada autor com chamada numérica. Na segunda página de rosto, coloque somente o título do trabalho.
  2. Se o artigo for em português ou espanhol, inicie a página 3 com o **Abstract**. Em primeiro lugar coloque o título do trabalho em inglês em letras minúsculas, com as iniciais em maiúsculas. Abaixo coloque a palavra ABSTRACT em maiúsculas junto à margem esquerda seguida de hífen, continuando com o texto do abstract em parágrafo único. Deixe espaço e mencione a seguir a palavra KEY WORDS em maiúsculas. Use no máximo cinco key words, diferentes das palavras usadas no título do trabalho, separadas por vírgula e com ponto final na última palavra.
  3. Inicie a página 4 com a palavra RESUMO em maiúsculas junto à margem esquerda seguida de hífen, continuando com o texto em parágrafo único. Não repita o título do trabalho. No final do **Resumo**, deixe espaço, e mencione as PALAVRAS-CHAVE, seguindo as intruções mencionadas para o Abstract.
  4. Se o artigo for em inglês, inicie a página 3 com o **Resumo**, incluindo o título em português e inicie a página 4 com o **Abstract**, sem incluir o título. As demais orientações que constam nos dois itens anteriores também se aplicam.
  5. Da página 5 em diante, inicie com a **Introdução** sem colocar a palavra introdução. Seguir com **Material e Métodos** e **Resultados e Discussão** (os dois últimos itens podem aparecer juntos ou de forma independente). Os títulos devem ser escritos em minúsculas, com as iniciais em maiúsculas, centralizados e **negritados**. Evite incluir o item Conclusões em separado. As conclusões devem ser mencionadas dentro do item **Resultados e Discussão**. Em seguida coloque o item **Agradecimentos**, se houver. Inicie página nova para mencionar a **Literatura Citada**.
- Nota: Escreva o(s) nome(s) científico(s) por extenso quando mencionados pela primeira vez no Resumo, Abstract e na Introdução. No restante do trabalho e nas legendas das figuras e cabeçalhos das tabelas, use o nome genérico abreviado.
6. Referências. Ao longo do trabalho mencione os autores das referências bibliográficas em minúsculas seguido do ano, observando a ordem cronológica e, em caso de artigos de mesmo ano, a ordem alfabética. P. ex.: (Martins 1986, Soares 1987, Garcia 1990, Rhode 1990). Para dois autores use o símbolo &. P. ex.: Robinson & Smith (1982). Para mais de dois autores use *et al.* em *italico*. P. ex.: Almeida *et al.* (1981). Em **Literatura Citada**, as referências devem seguir ordem alfabética usando o(s) nome(s) do(s) autor(es) em minúsculas, em **negrito**. Também em **negrito** o ano da referência. Cite apenas o número do volume. Não use o número do fascículo. Use vírgula para separar os nomes dos autores e não use ponto e vírgula. Cite o primeiro autor pelo sobrenome e após as iniciais dos nomes. Do segundo autor em diante use primeiro as iniciais do nome e após o sobrenome por extenso. Use o símbolo & antes de citar o último autor. Abrevie os títulos das fontes bibliográficas, sempre iniciando com letras maiúsculas. Optou-se pelo padrão de abreviaturas conforme lista publicada em Current Contents - Journal Coverage as of January 1995. Por não contarmos com uma lista oficial dos títulos nacionais, estes deverão ser abreviados conforme indicado no respectivo periódico.

Evite citar teses e não cite resumos. Veja exemplos de citação de artigo, livro e capítulo de livro.

**Acioli, A. 1971.** Nova praga de feijoeiro no Estado do Ceará *Chalcodermus* spp. (Coleoptera: Curculionidae). *Biológico* 37: 17.

**Waquil, J.M., P.A. Viana, A.I. Lordello, I. Cruz & A.C. de Oliveira. 1982.** Controle da lagarta do cartucho em milho com inseticidas químicos e biológicos. *Pesq. Agropec. Bras.* 17: 163-166.

**Chapman, R.F. 1982.** The insects structure and function. 3rd ed., Cambridge, Harvard University Press, 919p.

**Dale, D. 1988.** Plant-mediated effects of soil mineral stresses on insects, p. 35-110. In E.A. Heinrichs (ed.), Plant stress-insect interactions. New York, Wiley, 492p.

7. Após a lista de referências bibliográficas, inicie página nova com as tabelas. Coloque uma tabela por página. Cada tabela deverá ser numerada com algarismo arábico, seguido de ponto. P. ex.:

Tabela 1. Parasitismo (%) de *E. nitens* em adultos de *N. viridula* coletados no distrito da Warta, Londrina, PR.

As notas de rodapé nas tabelas deverão ter chamada numérica. Não use letras ou asteriscos.

8. Após as tabelas, inicie página nova com a lista de legendas das figuras. Escreva a palavra Figura, apenas com inicial maiúscula, seguida do número da figura e ponto. P. ex.:

Figura 3. Percentagem de lagartas de *A. gemmatilis* parasitadas por *E. chapadae* observadas em coletas semanais no campo em Ponta Grossa, PR.

**ATENÇÃO:** As referências às figuras no texto devem se abreviadas. P. ex.: Fig. 1. As referências às tabelas devem ser por extenso. P. ex.: Tabela 1. Nas Tabelas e Figuras utilizar a fonte Times New Roman e, quando se referir a valores médios, incluir o erro padrão da média e o n (número de observações), usando para a média uma casa decimal e para o erro padrão duas. Após as legendas das figuras inclua as figuras originais (a laser ou em papel vegetal - largura máxima 20 cm), uma por página, indicando no canto superior direito o número da figura e o sobrenome do primeiro autor, a lápis. Faça o mesmo na cópia das figuras que acompanham a segunda e terceira vias do trabalho. Evite o uso de fotografias.

9. Nas **Comunicações Científicas** inclua o **Abstract** e o **Resumo** seguidos das **KEY WORDS** e **PALAVRAS-CHAVE**. Faça o texto corrido sem dividi-lo em Introdução, Material e Métodos, etc.

Os trabalhos devem ser escritos em fonte Times New Roman e devem ser enviados em três vias (original e duas cópias), impressos em papel tamanho A4, com margem esquerda 2,5 cm e direita de 1,5 cm, em espaço duplo. Envie os trabalhos em disquete somente após a revisão final, quando solicitado. Use o programa Word 97 para o texto e preferencialmente o programa Excel para gráficos.

Será cobrada a taxa de R\$ 15,00 (quinze reais) por página impressa. Figuras coloridas poderão ser aceitas, quando necessárias, sendo cobrados, adicionalmente, R\$50,00 (cinquenta reais) por página colorida. Artigos em português podem ser traduzidos para o inglês, havendo para isso, um acréscimo de R\$ 12,00 (doze reais) por página do texto original. Os autores receberão gratuitamente 50 separatas.

Enviar manuscrito para:

Neotropical Entomology / Editora Chefe  
Sueli Souza Martinez

IAPAR - Área de Proteção de Plantas

Caixa postal 481

86001-970 Londrina, PR

E-mail: [suemart@onda.com.br](mailto:suemart@onda.com.br)

Telefone/Fax (43) 342-3987 e (43) 376-2262