

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

ATIVIDADE ESTERÁSICA EM MACHOS E OPERÁRIAS DE
Camponotus atriceps SMITH (HYMENOPTERA, FORMICIDAE)

LUCIANA DE OLIVEIRA ALMEIDA

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


ATIVIDADE ESTERÁSICA EM MACHOS E OPERÁRIAS DE
***Camponotus atriceps* SMITH (HYMENOPTERA, FORMICIDAE)**

LUCIANA DE OLIVEIRA ALMEIDA

Aprovado Pela Banca examinadora em
14/10/03 Nota 100,0


Drª Ana Maria Bonetti
Orientadora


MSc Marcus Teixeira Marcolino
Co-Orientador


MSc Flávia Assumpção Santana

Uberlândia – MG
Fevereiro - 2003

Campus Umuarama, Bloco 2E, Sala 2E 33

Uberlândia, MG, Brasil

38400-902

**ATIVIDADE ESTERÁSICA EM MACHOS E OPERÁRIAS DE *Camponotus atriceps*
SMITH (HYMENOPTERA, FORMICIDAE)**

Luciana de Oliveira Almeida

RESUMO – A complexa organização social das formigas possibilita a adaptação aos mais diversos tipos de ambientes, inclusive, em ambientes antrópicos. Formigas urbanas invadem e colonizam casas, edifícios e hospitais. Em casas, nidificam em aparelhos eletrônicos, em paredes, prejudicando toda a sua fundação, contaminam a comida ao forragear e causam mal estar ao homem. Em hospitais, carregam agentes patogênicos, atuando como vetores físicos de infecção hospitalar. Nos últimos anos, formigas carpinteiras da espécie *Camponotus atriceps* tem apresentado uma intensa atividade sinantrópica. No Brasil, essa formiga tem provocado sérios prejuízos econômicos. Assim, estudos sobre a biologia e controle destes insetos tornaram-se essenciais. Neste trabalho, analisou-se, por eletroforese em gel de poliacrilamida, o padrão de esterase de operárias e machos de *C. atriceps*, indivíduos inteiros e divididos em três partes: cabeça, mesossoma (tórax) e gáster (abdômen). O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Genética do Comportamento, do Instituto de Genética e Bioquímica/ Universidade Federal de Uberlândia em Uberlândia - MG. Nos insetos, as esterases estão relacionadas com processos digestivos, regulação do Hormônio Juvenil, degradação de inseticidas e entre outros. As esterases foram identificadas pela atividade enzimática frente aos substratos alfa e beta naftil acetato. Foram detectadas quatro regiões com atividade esterásica nos machos e três regiões nas operárias, nomeadas como EST-1, EST-2, EST-3 e EST-4, sendo a EST-4 específica de machos, com ocorrência apenas na cabeça. É possível especular que essa Esterase esteja ligada a algum comportamento específico de macho.

PALAVRAS-CHAVE: Formiga carpinteira, *Camponotus atriceps*, esterase.

No reino animal, sociedades de formigas são vistas como as mais complexas, onde cada indivíduo possui uma tarefa específica para o melhor desempenho da colônia (Bueno & Campos-Farinha 1999).

Todas as formigas são eussociais, isto é, apresentam divisão de trabalho entre os membros da colônia, superposição de gerações, presença de casta estéril (operárias e soldados) e reprodutiva (rainha) e cooperação no cuidado com a cria (Wilson 1971).

A complexa organização social, juntamente com o comportamento altruístico, levou as formigas a desenvolverem uma intrincada divisão de trabalho, resultando em especialização para determinadas tarefas, por alguns indivíduos. Essa especialização pode estar associada à idade (polietismo etário) e experiência ou à morfologia e tamanho (polietismo físico ou polimorfismo) do indivíduo. Há operárias especializadas em apenas poucos repertórios comportamentais, que variam em sensibilidade a estímulos e à quantidade de atividades que executam (Brandão 1978; Hölldobler & Wilson 1990; Fowler et al. 1991; Diehl-Fleig 1995). A organização social possibilita às formigas nidificarem nos mais diversos tipos de solo, entre rochas, raízes, troncos, sob folhas (Diehl-Fleig 1995) e, inclusive, em ambientes antrópicos (Diehl-Fleig 1995; Fowler 1996). Devido a essa organização social, machos e fêmeas desempenham papéis específicos dentro da colônia, onde as operárias são responsáveis pelo forrageamento, cuidado com a cria, limpeza da colônia, dentre outras atividades, os soldados, pela defesa do ninho, enquanto as rainhas e machos, pela reprodução. O comportamento social desses himenópteros pode ser explicado pelo sistema haplodiplóide, onde os machos são originados por arrenotoquia e as fêmeas, a partir de óvulos fecundados, influenciando na taxa de investimento reprodutivo, no valor adaptativo, no altruísmo e no fitness (Mayr 1977; Fowler 1996).

As esterases correspondem a um grupo heterogêneo de enzimas hidrolíticas, amplamente distribuídas entre os seres vivos. Catalisam a hidrólise dos ésteres, além de peptídeos, amidas e haletos. São divididas em quatro grupos: carboxilesterases, arilesterases, colinesterases e

acetilesterases, de acordo com o comportamento frente a diferentes inibidores e especificidade aos substratos.

Nos insetos, as esterases tem sido extensivamente estudadas. Embora ainda não esteja totalmente esclarecido o papel fisiológico da maioria dessas enzimas nesses organismos, há evidências de que elas participam dos processos digestivos, da regulação dos níveis de produção de Hormônio Juvenil (HJ), da degradação dos inseticidas (Nascimento et al 2000) e reconhecimento de feromônios (Vogt & Riddiford 1981).

O estudo da isoenzima esterase é, freqüentemente, utilizado para detectar a freqüência de variação genética dentro de populações, pois suas formas são determinadas geneticamente por vários loci (Selander 1976). A sua utilização para estudos em formigas permite verificar a ocorrência da variação de loci esterásicos em machos e operárias.

Os dados de literatura mostram que essas enzimas têm sido detectadas em todas as fases do desenvolvimento e em muitos tecidos dos insetos, o que demonstra a importância desta classe de enzimas no desenvolvimento ontogenético normal desses organismos. (Ceron 1988; Rits 1997).

A formiga da espécie *Camponotus atriceps* faz parte da subfamília Formicinae, as quais são caracterizadas por liberar ácido fórmico como defesa. Constituem um dos maiores gêneros, podendo ser encontrada em uma grande variedade de *habitats* (Caetano 2002).

Embora nenhum inseto, ecologicamente, seja visto como uma praga, o homem o considera assim, devido ao prejuízo econômico que acarreta. São poucas as espécies de formigas consideradas pragas, porém, os prejuízos acarretados por elas podem ser grandes, influenciando na biodiversidade e na economia (Bueno & Campos-Farinha 1999).

Com a modificação de seu habitat natural, pelo homem, formigas carpinteiras invadem e colonizam, praticamente, todos os ambientes: casas, hospitais, etc. Em residências, as formigas nidificam em aparelhos eletrônicos, chegando a inutilizá-los; em paredes, prejudicam sua fundação e, além disso, funcionam como vetores físicos de bactérias em ambientes hospitalares (Marcolino 1999; Campos-Farinha 2001).

A análise do perfil isoenzimático em formigas é importante para o conhecimento de sua biologia e conseqüente controle. Esse estudo define o padrão de atividade esterásica de machos e operárias de *C. atriceps*, acrescentando dados a sua biologia, os quais poderão ser utilizados em métodos de controle da espécie em ambientes perturbados.

Material e Métodos

O material biológico utilizado foi formigas da espécie *Camponotus atriceps*, coletadas nas cidades de Uberlândia, Uberaba, Franca e Porangatu, mantidas no Laboratório de Genética do Comportamento, do Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG, onde foram conduzidos os experimentos.

O padrão de esterases foi definido a partir do estudo de fêmeas estéreis (operárias) e machos de *C. atriceps*. Procedeu-se à análise por eletroforese em gel de poliacrilamida 10% (Tris-HCl 1.5M pH 8,8, Bis-acrilamida, 0,8:30), com gel de empilhamento 4%(Tris- HCl 0.5M pH 6.8, Bis-acrilamida 1,6:30), em condições não desnaturantes. A eletroforese foi processada a 4°C, 100V, 20mA, em média por 2 h com tampão Tris-Glicina pH 8,3.

A análise foi realizada em *pools* de três indivíduos, onde cada amostra era composta por machos (M) e operárias (Op) inteiros e em partes corpóreas: cabeça (C_M , C_O), mesossoma (M_M , M_O) e gáster (G_M , G_O) de machos e operárias respectivamente. Cada *pool* foi homogeneizado em tampão de amostra (Tris-HCl 0,1M, pH 8,8, contendo glicerol a 10% e azul de bromofenol 0,01%), centrifugado a 15000rpm por 20 minutos a 4°C. O sobrenadante foi aplicado no gel de poliacrilamida 10%, conforme acima.

As bandas com atividade esterásica foram reveladas pelo método de coloração descrito por Ceron (1988). Após a eletroforese, os géis foram pré-incubados em tampão fosfato 0,1M, pH 6,2

por cerca de 45 minutos, à temperatura ambiente e, em seguida, submetidos à coloração com Fast Blue RR Salt, com os substratos alfa (α) e beta (β) naftil acetato juntos e separadamente, durante 45 minutos. As atividades da alfa e beta esterases foram visualizadas nos géis como bandas de coloração preta e vermelha, indicando a hidrólise preferencial de alfa ou de beta naftil acetato, respectivamente.

Resultados e Discussão

O padrão eletroforético da enzima Esterase frente ao substrato β -naftil acetato em machos e operárias de *C. atriceps*, apresentou quatro regiões de atividade, denominadas de EST-1, EST-2, EST-3 e EST-4 sendo numeradas a partir da região anódica (Fig.1). O substrato alfa naftil acetato não revelou bem as Esterases nesse estudo e, portanto, não está sendo apresentado.

A EST-4 foi detectada somente na cabeça de machos e as Esterases 1, 2 e 3 ocorrem em machos e fêmeas, como mostra a Figura 1. A EST-4 pode estar relacionada ao desenvolvimento e maturação do macho, assim com ocorre, para algumas Esterases, em *Drosophila Melanogaster* (Campbel 1998). Gáster de machos mostraram, também, regiões de atividade esterásica com maior intensidade do que nas fêmeas.

As Esterases EST-1 e EST-3 foram detectadas em todas as amostras, sendo a EST-1 mais intensa na amostras de operárias. As operárias de *C. atriceps* apresentam complexa atividade comportamental como, forrageamento, cuidado com a prole, trofalaxia, auto-limpeza e *allogrooming* (Marcolino 1999) e a EST-1 pode estar relacionada a esses comportamentos.

Os tecidos presentes no mesossoma de operária (M_0) foram os que revelaram Esterases em menor número e intensidade. Há duas hipóteses a considerar: ou nesses tecidos circula menor quantidade de substrato para elas, como por exemplo Hormônio Juvenil, ou, justamente o contrário,

como há mais substrato, a Esterase está sendo rapidamente consumida e não foi possível detectá-la no gel.

A EST-1 mostra intensa atividade em operárias, tanto no corpo total quanto nas partes (Fig.1). Essa Esterase pode estar relacionada ao metabolismo de Hormônio Juvenil, que em outros insetos, como as abelhas, ocorre em níveis mais altos em fêmeas (Bonetti 1982;1990).

A EST-2 esteve presente em todas as amostras de machos, enquanto que em operárias, ela ocorre somente na gáster. Essa enzima pode estar ligada a fator sexo-específico.

O presente estudo representou o início de padronização de uma metodologia que pode ser útil na diferenciação de sexo e casta em formigas.

Referências Bibliográficas

- Bonetti, A. M., 1982.** Ação do Hormônio Juvenil sobre a Expressão Gênica em *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, São Paulo.
- Bonetti, A. M., 1990.** Genética da Determinação de Casta em *Melipona*. Ação do Hormônio Juvenil sobre Esterases e corpora allata Durante Desenvolvimento Pós-Embrionário. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, São Paulo.
- Brandão, C. R. F. 1978.** Division of labor within the worker caste of *Formica perpilosa wheeler* (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche* 85: 229-237.
- Bueno, O. C. and 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.
- Caetano, F.H., K. Jaffé & F.J. Zara. 2002.** *Formigas:biologia e anatomia*. Editora Topázio. Rio Claro,SP.
- Campbell, P. M., J. G. Oakeshott & M. J. Healy. 1998.** Purification and Kinetic Characterisation of Juvenile Hormone Esterase from *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 28:501-515.

Campos-Farinha, A. E. de C., 2001. Consultas ao Instituto Biológico, São Paulo, sobre formigas urbanas em residências. Anais do XI Encontro de Mirmecologia. p. 111-112.

Ceron, C. R. 1988. Padrão de esterases no desenvolvimento de *Drosophila mulleri*, *D. arizonae* e seus híbridos. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Diehl-Fleig, E. 1995. Formigas: organização social e ecologia comportamental. Editora Unisinos, São Leopoldo, RS.

Fowler, H. G. 1996. Biodiversidade em assembléias de formigas neotropicais (Hymenoptera: formicidae): efeitos de escala espacial, biogeografia e comportamento específicos sobre a organização e estrutura das diversidades locais e regionais. Tese de Livre Docência, Instituto de Biociências, Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro.

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.

Hölldobler, B. & E. O. Wilson 1990. The ants. Cambridge, Massachusetts., Belkanap-Harvard. 733p.

Marcolino, M. T. 1999. Estudos genéticos e comportamentais de formigas carpinteiras *Camponotus atriceps* Smith (Hymenoptera, Formicidae). Tese de Mestrado, Pós-graduação em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais,

- Mayr, E. 1977.** Populações, espécies e evolução. São Paulo, SP. Ed. Nacional – EDUSP, 484p.
- Nascimento, V.A., S.H. Matusita & W.E. Kerr. 2000.** Evidence of hybridization between two species of *Melipona* bees. *Genetics and Molecular Biology*, 23(1):79-81.
- Rits, F. R. C. 1997.** Padrão de esterase em *Megaselia scalaris*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de São Paulo, São José do Rio Preto.
- Selander, R. K. 1976.** Genetic variation in natural populations. In F. J. Ayala (ed.), *Molecular Evolution*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Vogt, R. G. & M. L. Riddiford. 1981.** Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature*, 293:161-163.
- Wilson, E. O. 1971.** *The insects societies*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Mass.

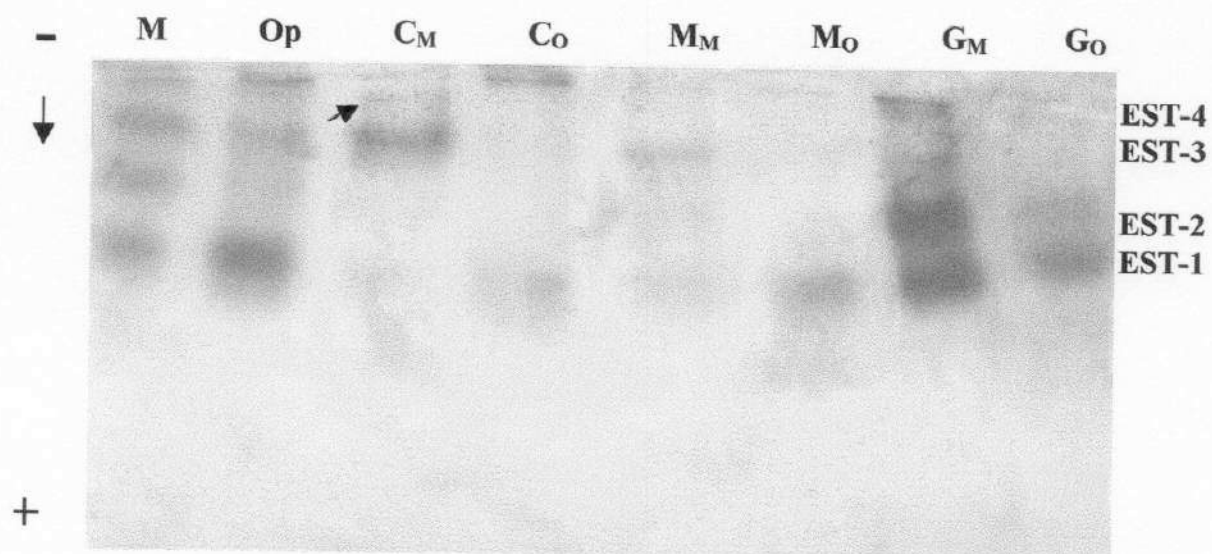


Figura 1: Perfil esterásico de machos (M) e operárias (Op) de *Camponotus atriceps*

- M – macho inteiro
- Op – operária inteira
- C_M - cabeça de macho
- C_O – cabeça de operária
- M_M - mesossoma de macho
- M_O – mesossoma de operária
- G_M – gáster de macho
- G_O – gáster de operária

Substrato: 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 *itálico*. 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 instruções 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 itálico. P. ex.: Almeida *et al.* (1981). Em **Literatura Citada**, as referências devem seguir ordem alfabética usando o(s) nome(s) do(s) autore(s) 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.