



COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA EPICUTÍCULA DE OPERÁRIAS DE *MELIPONA MARGINATA* (HYMENOPTERA, APINAE, MELIPONINI)

FERREIRA-CALIMAN, M. J.¹; CABRAL, G. C. P.¹; MATEUS, S.¹; TURATTI, I. C. C.²; NASCIMENTO, F. S.³; ZUCCHI, R.¹

¹Departamento de Biologia; Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (jucaliman@pg.ffclrp.usp.br)

²Departamento de Física e Química da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

³Departamento de Biologia, CCBS, Universidade Federal de Sergipe

INTRODUÇÃO

Os meliponíneos correspondem ao grupo de abelhas que não apresentam ferrão e encontram-se amplamente distribuídos pelos trópicos e subtropicais (Sakagami, 1982). Sua avançada organização eussocial é evidenciada por uma complexidade de comportamentos regidos por diferentes mecanismos reguladores. Grande parte desses comportamentos é controlada por feromônios, principalmente os que se referem à identificação e à comunicação dos insetos adultos, tais como a discriminação de companheiras de ninho e o reconhecimento de castas, além dos processos relacionados ao comportamento de corte e acasalamento (Breed & Bennett, 1987).

Os insetos sociais possuem mecanismos bem desenvolvidos de comunicação química, sendo os receptores olfativos amplamente utilizados nesse processo. Assim, os hidrocarbonetos presentes na cutícula constituem o grupo de compostos químicos de importância fundamental para a sinalização intra e inter-colonial. Além da função de proteger a cutícula e conseqüentemente o animal como um todo da desidratação (Lockey, 1988), esses compostos são geralmente relacionados à identificação dos papéis dos indivíduos dentro da colônia, ou seja, a qual casta pertence, quais são os indivíduos geneticamente relacionados, qual a sua função na colônia e outras respostas comportamentais (Singer *et al.*, 1998).

Em meliponíneos, as características dos hidrocarbonetos presentes na cutícula ainda são pouco conhecidas. Trabalhos recentes como Abdalla *et al.* (2003) mostram que os perfis dos compostos variam entre as castas e sexo em *Melipona bicolor*, sendo que os hidrocarbonetos cuticulares fornecem

um perfil ou uma “assinatura” química para cada indivíduo

A cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa (CG-MS) é uma poderosa ferramenta de análise dos compostos cuticulares de insetos, pois é capaz de separar componentes altamente voláteis, ou seja, substâncias quimicamente estáveis em estado gasoso, como muito dos feromônios. Desse modo, a utilização do CG-MS associada ao estudo comportamental certamente nos fornece subsídios para o entendimento dos aspectos sócio-biológicos de meliponíneos, indicando como ocorre a distribuição de hidrocarbonetos pela cutícula desses insetos e correlacionando-os com seu comportamento dentro da colônia.

OBJETIVOS

O presente trabalho, utilizando-se de observação comportamental e análise química por GC-MS, pretende mostrar as diferenças existentes entre os perfis químicos de operárias da espécie *Melipona marginata*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente estudo foi utilizada uma colônia de abelhas da espécie *M. marginata*, mantida em caixa de madeira no Laboratório de Ecologia e Evolução da FFCLRP-USP. Foram utilizadas 6 operárias com atividade no favo de cria, 6 campeiras e 6 operárias recém emergidas.

Testes de reconhecimento e comparação das substâncias químicas presentes na cutícula (HC) foram feitos na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP. Foram extraídos os compostos cuticulares de indivíduos atuando em diferentes atividades na colônia por

meio de banhos em solvente apolar hexano (500 μ l) por 1 min. As amostras foram analisadas em um sistema de Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas SHIMADZU, modelo GCMS-QP2010, equipado com coluna DB - 5MS 30m e hélio como gás carreador à 1 ml/min, utilizando ionização eletrônica (EI) a fim de se determinar o espectro do pico molecular e obter informações a respeito das estruturas. Posteriormente, os dados foram analisados para caracterização do espectro de massa. Comprimentos de cadeias equivalentes foram determinados utilizando-se *n*-alcanos padrões (Sigma Chemical Co.), e quantificação foram baseadas nas áreas de pico obtidas pelos cromatogramas (Singer *et al.*, 1992). O protocolo de temperatura usado foi: 150° até 300°C (10 min) e à 3°C por minuto. Análises foram feitas em modo *splitless*. Os testes estatísticos deste projeto foram feitos com auxílio do pacote Statistica for Windows 7.0 (Statsoft, inc).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado das análises mostraram que alguns compostos não diferem significativamente em porcentagem entre os indivíduos. O hidrocarboneto **Tricosane** (tempo de retenção - TR= 23,93 min.), por exemplo, foi encontrado em operárias recém emergidas (RE), com atividade no favo de cria (OF) e campeiras (OC) em concentrações médias semelhantes, sendo: RE 14,10% \pm 3,77; OF 13,67% \pm 15,58 e OC 16,3% \pm 3,27. Outros compostos apresentaram concentrações diferentes entre estes mesmos indivíduos, como, por exemplo, **Z Heptacosene** (TR= 33,43 min.) com médias de: RE 0,49% \pm 0,37; OF 4,29% \pm 2,41 e OC 5,15% \pm 1,36, **Z Heptacosene** (TR= 33,55 min.): RE 31,21% \pm 4,61, OF 1,82% \pm 1,15 e OC 2,5% \pm 0,41, **Z Nonacosene** (TR= 38 min.): RE 0%, OF 2,21% \pm 1,93 e OC 3,38% \pm 1,13, **Z Nonacosene** (TR= 38,27 min.): RE 17,56% \pm 1,3, OF 1,93% \pm 1,8 e OC 0,65% \pm 0,27, e **Z Hentriacontane** (TR= 42,65 min.): RE 7,03% \pm 0,94, OF 1,71% \pm 0,7 e OC 0,48% \pm 0,26. As distâncias de Mahalanobis apontam para distância significativa entre operárias recém emergidas e operárias do favo, e entre operárias recém emergidas e campeiras.

CONCLUSÃO

Assim, a análise do perfil químico de operárias de *Melipona marginata* demonstra claramente que estas compartilham hidrocarbonetos, os chamados *Hidrocarbonetos Estruturais*, que variam, entretanto, em quantidade de acordo com a casta

a qual o indivíduo pertence. A presença desses hidrocarbonetos estruturais é de fundamental importância para o reconhecimento entre membros de uma colônia e a diferenciação das concentrações sugere que estes agem como sinalizadores das atividades que estes desempenham na mesma.

(Os autores agradecem ao aluno de pós-graduação Túlio Marques Nunes da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdalla F. C.; Jones, G. R.; Morgan, D.; Cruz-Landim, C. Comparative study of the cuticular hydrocarbon composition of *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini) workers and queens. *Genet. Mol. Res.*, 2: 191-199, 2003.
- Breed, M. D. & Bennett, B. Kin recognition in highly eusocial insects. In: Fletcher, D.J.C. & Michener, C.D. (eds.), *Kin recognition in animals*, John Wiley & Sons, Chichester, 1987, 243-285p.
- Lockey, K. H. 1988. Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comp. Biochem. Physiol.*, 89B: 595-645p.
- Sakagami, S. F. Stingless bees. In: Henry R. Herman (ed.), *Social Insects*, vol. III, Academic Press, London, 1982, 361 - 423p.
- Singer, T. L. & Espelie, K. E. Social wasps use nest paper hydrocarbons for nestmate recognition, *Animal Behavior*, 1992, 44: 63-68.
- Singer, T. L.; Espelie, K. E.; Gamboa, G. J. 1998. Nest and nestmate discrimination in independent-founding wasps. In: Vander Meer, R.K.; Breed, M.D.; Winston, M.L.; Espelie, E.K. (eds.), *Pheromone communication in social insects*, Westview, Boulder, p.104-125.