



CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DA ABELHA SEM FERRÃO *MELIPONA FLAVOLINEATA* COMO FERRAMENTA PARA A PRESERVAÇÃO DA ESPÉCIE.

J. B. Silva; R.O. Brito; E. A. Miranda; J.C. Silva Júnior.

Laboratório de Citogenética, Departamento de Ciências Biológicas. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Rua José Moreira Sobrinho, s/nº, Jequiezinho, Jequié - BA. jamilbrito@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

As abelhas sem ferrão constituem um grupo ecologicamente importante, pois atuam na manutenção da diversidade das plantas como polinizadores. Acredita-se, que no Brasil de 40 a 90% das árvores nativas são polinizadas por abelhas sem ferrão, dependendo do ecossistema (KERR, 1996). A Subtribo Meliponina é um grupo de abelhas sociais que engloba todos os gêneros de abelhas sem ferrão, representada por várias centenas de espécies em toda a região neotropical. Todas as espécies são eussociais, embora algumas delas vivam de alimento roubado de colônias de outras espécies. Seus ninhos são, em geral, construídos em cavidades pré-existentes (ocos de árvores, ninhos abandonados de cupins e formigas etc.), mas algumas espécies constroem ninhos expostos (SILVEIRA *et. al.*, 2002).

O gênero *Melipona* compreende cerca de 40 espécies, dessas 36 são encontradas no Brasil. Taxonomicamente, o gênero é muito uniforme, sendo que muitas espécies diferem apenas em seu padrão de coloração (VELTHUIS, 2003).

A citogenética compreende qualquer estudo relativo ao cromossomo. O estudo citogenético tem demonstrado ser uma ferramenta poderosa na sistemática (citotaxonomia) de vários grupos, e na separação de espécies morfologicamente semelhantes (espécies crípticas), uma vez que o cariótipo constitui uma característica imune às variações ambientais, comportamentais ou fisiológicas (GUERRA, 1988). Estudos citogenéticos da subtribo Meliponina revelam uma grande variação no número cromossômico, de $n=8$ a $n=18$ cromossomos, sendo $n=17$ o número predominante (ROCHA *et. al.*, 2002).

OBJETIVO

Em vista da grande importância do gênero *Melipona* nos ecossistemas neotropicais e a grande

diversidade cariotípica deste grupo, este trabalho tem como objetivo caracterizar citogeneticamente a espécie *Melipona flavolineata*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares da abelha *Melipona flavolineata* foram coletados na região de Cerrado no estado do Maranhão. As larvas foram coletadas, transferidas para placa de Petri e mantidas em estufa a 25°C até que atingissem o estado pós-defecante para que pudessem ser utilizadas para as preparações citogenéticas. Os cromossomos mitóticos foram obtidos de acordo com a técnica descrita por IMAI *et al.* (1988). Os gânglios cerebrais das larvas foram extraídos e colocados em solução hipotônica de colchicina (0,01%) durante meia hora. Em seguida, os gânglios foram transferidos para uma lâmina onde foi retirado o excesso de colchicina e o material foi fixado. Para isso pingou-se uma gota do fixador I (etanol, ácido acético, água 1:1:2) sendo então dissociado o material. Posteriormente, foram adicionadas duas gotas do fixador II (etanol, ácido acético 1:1) sobre o material já macerado sendo o excesso retirado com papel filtro, e uma gota do fixador III (ácido acético 100%) foi adicionado. As lâminas foram deixadas para secar a temperatura ambiente por 24 horas e em seguida corada com solução de Giemsa em tampão Sörensen (1 ml de Giemsa para 15 de tampão Sörensen).

Para localização das regiões organizadoras de nucléolos (RONs) foi utilizada a técnica de coloração com nitrato de prata de HOWELL & BLACK (1980). Nesta técnica adicionaram-se sobre a lâmina uma gota de solução aquosa de gelatina a 2% e em seguida duas gotas de solução aquosa de nitrato de prata (50%). Em seguida as lâminas foram cobertas com lamínulas e colocadas em câmara úmida a 60°C por cinco minutos. Decorrido esse tempo, as lamínulas foram retiradas e as lâminas lavadas em água destilada por 2 min. As lâminas foram observadas em microscópio óptico na objetiva de 100X e as melhores metáfases foram fotografadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 25 lâminas, onde foram observados um total de 8 metáfases por lâmina. A técnica de coloração convencional mostrou que a espécie *Melipona flavolineata* apresenta um número cromossômico haplóide de $n=9$ cromossomos para os machos, e diplóide de $2n=18$ cromossomos para as fêmeas. A técnica de coloração com nitrato de prata revelou a presença de duas marcações, correspondentes às regiões organizadoras de nucléolos, presentes na região telomérica de dois cromossomos do cariótipo haplóide. Os dados relativos ao número cromossômico para esta espécie corroboram os dados presentes na literatura, que descrevem $2n=18$ para este gênero. A localização das RONS nesta espécie vem a ser de grande valia na citotaxonomia, uma vez que elas representam marcadores que possibilitam a diferenciação de espécies semelhantes morfológicamente e com mesmo número cromossômico. Desta forma, estudos citogenéticos deste organismo permitem ampliar o conhecimento sobre o conjunto cromossômico, auxiliando nos estudos evolutivos e citotaxonômicos e fornecendo dados para o estabelecimento de estratégias de conservação e preservação de abelhas sem ferrão.

CONCLUSÃO

A caracterização citogenética de *Melipona flavolineata* revelou que, similarmente a outras espécies deste gênero, *M. flavolineata* apresenta $n=9$ cromossomos para os machos e $2n=18$ cromossomos para as fêmeas. A localização das RONS para esta espécie, com dois sítios de marcação, mostra-se de grande valor pois pode permitir sua distinção das outras espécies de mesmo número cromossômico. Contudo, faz-se necessário a aplicação de outras técnicas, como Bandamento C, para o conhecimento da localização e distribuição da heterocromatina, que permitirá a montagem do cariótipo dessa espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GUERRA, M. S. **Introdução a Citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.
- HOWELL, W. M. & BLACK, D. Controlled Silver - Staining of Nucleolus Organizer Regions with a Protective Colloidal Developer: a 1- Step Method. **Experientia**. n. 36, p. 1014 - 1015, 1980.
- IMAI, H. T. *et al.* Modes of spontaneous chromosomal mutation and karyotype evolution in ants with reference to the minimum interaction hypothesis. **J. genet. Jap.** n. 63, p. 169 - 185, 1988.
- ROCHA, M. P *et al.* DNA characterization and karyotype evolution in the bee genus *Melipona* (Hymenoptera, Meliponini). **Hereditas**. n. 1, vol. 136, p.19-27, 2002.
- SILVEIRA, F. A.; MELO, G.A.R.; ALMEIDA, E.A.B. **Abelhas brasileiras: Sistemática e identificação**. Belo Horizonte: Fundação Araucária, 2002.
- VELTHUIS, H. H. W *et al.* **The conservative egg of the genus *Melipona* and its consequences for speciation**. In G. A. R. Melo & I. Alves-dos-Santos (eds.), *Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 Anos de Jesus Santiago Moure*. Editora Unesc, Criciúma. p. 209-216, 2003.