

CARACTERIZAÇÃO CITOGÉNÉTICA DA ESPÉCIE *Trigona chanchamayoensis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) ENCONTRADA NO CERRADO BRASILEIRO

CYTOGENETICS CHARACTERIZATION OF SPECIES *Trigona chanchamayoensis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) FOUND IN BRAZILIAN SAVANNA.

Anderson Fernandes¹; Adriane Barth¹; Wagner Martins Santana Sampaio²

1- Centro de Pesquisas, Estudos e Desenvolvimento Agro-Ambientais – CPEDA, Universidade do Estado de Mato Grosso, Tangará da Serra-MT;

2- Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG

anderson@unemat.br

Resumo

As abelhas da subtribo Meliponini são conhecidas como abelhas sem ferrão. Elas são as principais vítimas dos avanços das fronteiras agrícolas principalmente pela ação das queimadas. Este trabalho teve como objetivo caracterizar citogeneticamente a espécie *Trigona chanchamayoensis*. Os cromossomos metafásicos foram obtidos a partir dos gânglios cerebrais de larvas. Foi possível observar que a espécie *T. chanchamayoensis* apresentou número cromossômico de $2n=34$ para as fêmeas e $n=17$ para os machos. O fluorocromo DAPI apresentou fortes marcações ao longo de um dos braços de todos os cromossomos, indicando que essas regiões são ricas em pares de bases AT. O fluorocromo CMA₃ apresentou fortes marcações na região intersticial do braço longo de um dos pares dos cromossomos acrocêntricos. Ao que tudo indica estas regiões podem estar envolvidas com as NORs (Região Organizadora de Nucléolos) nesta espécie.

Palavras-chave: citogenética, abelha sem ferrão fluorocromos

Abstract

Bees of the subtribe Meliponini are known as stingless bees. They are the main victims of the agricultural frontier advances mainly by the action of fire. This study aimed to characterize the species *Trigona chanchamayoensis* cytogenetically. The metaphase chromosomes were obtained from the cerebral ganglia larvae. It was observed that the species *T. chanchamayoensis* showed chromosome number of $2n = 34$ for females. $n = 17$ for males. The fluorochrome DAPI showed strong markings along one of the arms of all chromosomes, suggesting that these regions are rich in AT base pairs. The fluorochrome CMA3 showed strong marks in the interstitial region of the long arm of one of the pairs of acrocentric chromosomes. Apparently these regions may be involved with the NORs (Nucleolus Organizing Regions) in this species.

Key words: cytogenetics, stingless bee fluorochromes

Introdução

O cerrado é o segundo bioma mais extenso do Brasil, com cerca de 23% da área total do país. A grande variabilidade de habitats desse domínio suporta uma enorme diversidade de espécies de plantas e animais, muitos deles com ocorrência restrita a essa

região. Atualmente o cerrado é tido como *hotspots* de biodiversidade ameaçada (Myers *et al.*, 2000). De acordo com Henriques (2003) este bioma comporta somente 59% da sua vegetação original, portanto, muitas espécies ali existentes podem desaparecer antes mesmo de serem estudadas. Segundo Kerr *et*

al., 2001, as abelhas pertencentes a tribo Meliponini, também conhecidas como abelhas sem ferrão são responsáveis por cerca de 30 a 80% da polinização em plantas nativas e cultivadas e uma das principais vítimas desses avanços, principalmente devido à ações como desmatamentos e queimadas (Kerr *et al.*, 2001).

Estudos mais aprofundados sobre esses organismos auxiliam na caracterização e classificação correta de suas espécies. A análise citogenética é um desses estudos e tem trazido várias contribuições ao conhecimento da filogenia, dos mecanismos de especiação e da variabilidade genética, devido aos cromossomos representarem a base física do sistema genético (Guerra, 1988). Esta modalidade de estudo, para a tribo Meliponini, iniciou-se em 1948 (Kerr, 1948) e desde então cada vez mais espécies vem sendo estudadas. Em 2003, Rocha *et al.* estimaram que 31 gêneros já apresentavam representantes cariotipados.

A utilização de fluorocromos base-específicos tem sido muito difundida em estudos citogenéticos dos organismos, pois fornecem informações valiosas sobre a composição de bases predomine de uma região. Por serem corantes que florescem quando excitados por luz de um comprimento de onda específico e se ligarem especificamente com certas bases do DNA, eles podem ser utilizados de forma a identificar blocos predominantemente ricos em pares de bases AT ou CG. Neste sentido 4'-6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) é um fluorocromo que se liga preferencialmente a bases AT gerando assim padrões de bandas brilhantes mais acentuadas nessas regiões. Já a Cromomicina A₃ (CMA₃) é um antibiótico que tem afinidade com pares de bases GC (Sumner, 1990).

Este trabalho tem como finalidade caracterizar citogeneticamente a espécie de abelha sem ferrão *Trigona chanchamayoensis* por meio do estabelecimento do número cromossômico para a espécie e a predominância de pares de bases (AT ou CG) que compõem porções específicas dos cromossomos.

Materiais e Métodos

As larvas foram obtidas de um ninho coletado

no município de Tangará da Serra – MT situado nas coordenadas 14° 04' 38" S e 57° 03' 45" W. Os indivíduos adultos foram identificados no Laboratório de Biologia Geral (LBG) da UNEMAT Campus de Tangará da Serra – MT, sob número de tombo MZT66. A identificação foi confirmada pelo taxonomista Dsc. Fernando Silveira, professor da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG.

Para as análises citogenéticas foram utilizados vinte indivíduos (15 metáfases por indivíduo). Os cromossomos foram obtidos a partir da retirada do gânglio cerebral de larvas pós-defecantes, seguindo metodologia proposta por Imai *et al.* (1988). Para a coloração convencional foi utilizado o corante Giemsa e Tampão Sörensen (2ml de Giemsa e 15ml de tampão) por 20 minutos. Os fluorocromos foram realizados de acordo com metodologia proposta por Schweizer (1976).

As metáfases foram fotografadas por meio de uma câmera CCD (OPTRONICS, modelo DEI-470) conectada a um microscópio OlympusTM BX60, equipado com epifluorescência e com objetiva de imersão com aumento de 100x. As imagens foram analisadas utilizando-se o programa de análise de imagem Image-Pro Plus, versão 3.1 (Media Cybernetics, 1998). Os cariótipos foram montados seguindo nomenclatura de Imai (1991).

Resultados

Com a coloração convencional pôde-se determinar o número cromossômico de $2n=34$ para fêmeas e $n=17$ para os machos (Figura 1A). O fluorocromo DA/DAPI apresentou fortes marcações nos braços longos de todos os cromossomos, indicando que essas regiões são ricas em pares de bases AT (Figura 1B). Já o CMA₃ apresentou fortes marcações na região intersticial de um par de cromossomos (Figura 1C).

Discussão e Conclusão

O número cromossômico desta espécie está de acordo com o encontrado por outros pesquisadores para o gênero *Trigona* (Costa *et al.*, 2004; Rocha *et al.*, 2003), sendo que das dezenove espécies reconhecidas

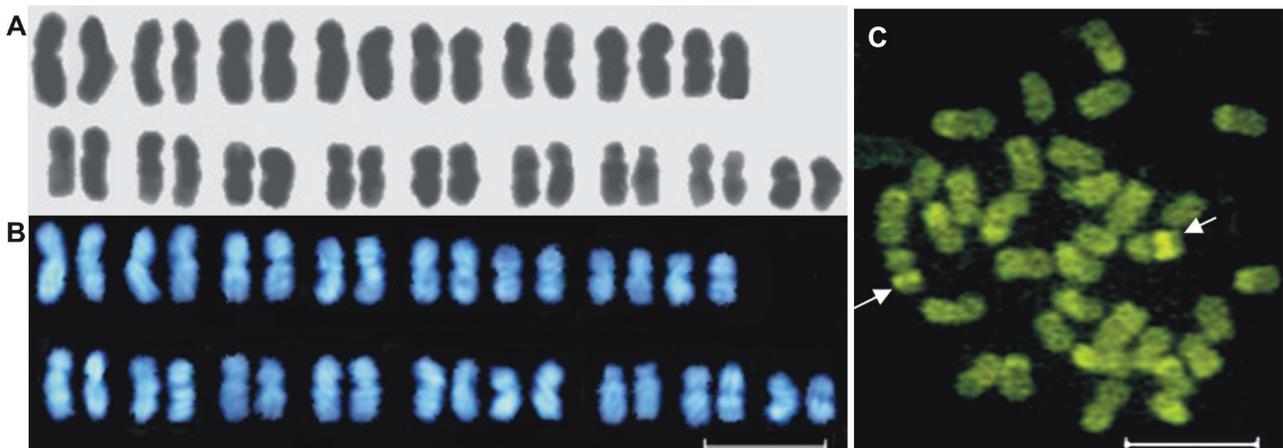


Figura 1. Cromossomos de fêmeas de *Trigona chanchamayoensis* ($2n=34$) coradas com A) Giemsa, B) fluorocromo DAPI e C) fluorocromo CMA_3 . Setas indicam marcações CMA_3^+ . Barra= 5 μ m.

no gênero, 8 foram estudadas citogeneticamente (Praça *et al.*, 2010) e até o momento, o número cromossômico par o gênero parece se manter conservado ($2n=34$ para fêmeas e $n=17$ para machos). Com o aumento do número de espécies, tanto do gênero *Trigona* quanto da tribo Meliponini, este número cromossômico vem se tornando uma constante; raras são as exceções dentro da tribo e mesmo estas normalmente estão associadas à presença de cromossomos B (Costa *et al.*, 1992; Brito *et al.*, 1997; Brito, 1998; Rocha, 2002; Rocha *et al.*, 2003; Lopes *et al.*, 2008; Marthe *et al.*, 2010; Barth *et al.*, 2011).

O fluorocromo DAPI apresentou marcações uniforme ao longo de todos os cromossomos, indicando uma distribuição homogênea de bases AT. Blocos ricos em bases AT são constantemente associados à heterocromatina em outras espécies de abelhas da tribo. Rocha *et al.* (2003) aponta que esta característica pode ter relação com o mecanismo de evolução cromossômica associado à este grupo. A princípio, fissões centroméricas seguidas de incorporação de heterocromatina nas extremidades recém-criadas conduzem ao aumento do número cromossômico e ao surgimento de grandes blocos heterocromáticos composto predominantemente por pares de base AT, esta teoria de evolução cromossômica é defendida por Imai *et al.* (2001). De uma forma geral, toda a heterocromatina encontrada nos cromossomos das abelhas da tribo Meliponini é predominantemente

composta por bases AT, exceções se fazem às heterocromatinas associadas à região organizadoras de nucléolo (NORs), sendo que estas se mostram ricas em bases CG. Neste sentido, ao que tudo indica o par cromossômico fortemente marcado pelo fluorocromo CMA_3 parece conter as regiões envolvidas com as NORs (Região Organizadora de Nucléolos) nesta espécie. A relação entre CMA_3^+ e NOR é apontada para vários organismos inclusive para abelhas da tribo Meliponini (Brito *et al.*, 1997; Brito, 1998; Rocha, 2002; Lopes *et al.*, 2011; Rocha *et al.*, 2007; Duarte *et al.*, 2009, Maffei *et al.*, 2001), segundo Sumner (2003) a heterocromatina associada às regiões organizadoras de nucléolo são tipicamente compostas por bases CG, o que justifica em última análise a correlação positiva entre marcações CMA_3^+ e NOR.

Os dados encontrados no presente trabalho somam-se aos demais já apresentados na literatura indicando que as características citogenéticas das abelhas sem ferrão se mostram bem conservadas, em especial o número cromossômico, a riqueza em bases AT presentes na heterocromatina e a predominância de bases CG associadas às NORs e que esta conservação pode estar associada à recente divergência evolutiva do grupo.

Agradecimentos

Somos gratos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo

à Pesquisa de Mato Grosso (FAPEMAT) pelo suporte financeiro.

Bibliografia

Barth A, Fernandes A, Pompolo SG, Costa MA. (2011) Occurrence of B chromosomes in *Tetragonisca* Latreille, 1811 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): a new contribution to the cytotaxonomy of the genus. **Genetics and Molecular Biology**, 34(1): 76-79. DOI: 10.1590/S1415-47572010005000100.

Brito RM. (1998) Caracterização citogenética de duas espécies do gênero *Partamona* Schwarz, 1939 (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). Masters Thesis, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil.

Brito RM, Costa MA, Pompolo SG. (1997) Characterization and distribution of supernumerary chromosomes in 23 colonies of *Partamona helleri* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Brazilian Journal of Genetics**, 20: 185-188.

Costa MA, Pompolo SG, Campos LAO. (1992) Supernumerary Chromosomes in *Partamona cupira* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Brazilian Journal of Genetics**, 15: 801-806.

Costa KF, Brito RM, Miyazawa CS. (2004) Karyotypic description of four species of *Trigona* (Jurine, 1807) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) from the State of Mato Grosso, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, 27: 187-190.

Duarte OMP, Martins CCC, Waldschmidt AM, Costa MA. (2009) Occurrence of multiple nucleolus organizer regions and intraspecific karyotype variation in *Scaptotrigona xanthotricha* Moure (Hymenoptera, Meliponini). **Genetics and Molecular Research**, 8: 831-839. DOI: 10.4238/vol8-3gmr598.

Guerra MS. (1988) **Introdução a citogenética**. Pernambuco: Ganabara Koogan. 139pp.

Henriques RPB. (2003) O Futuro ameaçado do cerrado. **Ciência Hoje**. 33 (195): 34-37.

Imai HT. (1991) Mutability of constitutive heterochromatin (C-bands) during eukaryotic Evolution e Conservação da Biodiversidade

chromosomal evolution and their cytological meaning. **Japanese Journal of genetics**, 66: 635-661.

Imai HT, Taylor RW, Crozier RH. (1988) Modes of spontaneous chromosomal mutation and karyotype evolution in ants with reference to the minimum interaction hypothesis. **Japanese Journal of Genetics**, 63: 159-185.

Imai HT, Satta Y, Takahata N. (2001) Integrative study on chromosome evolution of mammals, ants and wasps based on the minimum interaction theory. **Journal of Theoretical Biology**, 210(4): 475-497.

Kerr WE. (1948) Estudos sobre o gênero *Melipona*. **Anais da E. S. A. "Luiz de Queiroz"** 5: 182-276.

Lopes DM, Pompolo SG, Campos LAO, Tavares MG. (2008) Cytogenetic characterization of *Melipona rufiventris* Lepeletier 1836 and *Melipona mondury* Smith 1863 (Hymenoptera, Apidae) by C banding and fluorochromes staining. **Genetics and Molecular Biology**, 31: 49-52.

Lopes DM, Fernandes A, Praça-Fontes MM, Werneck HA, Resende HC, Campos LAO. (2011) Cytogenetics of three *Melipona* species (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Sociobiology**, 58: 185-194.

Maffei EMD, Pompolo SG, Silva-Júnior JC, Caixeiro APA. (2001) Silver staining of nucleolar organizer regions (NOR) in some species of hymenoptera (bees and parasitic wasp) and Coleoptera (lady-beetle). **Cytobios**, 104: 119-125.

Marthe JB, Pompolo SG, Campos LAO, Salomão TMF, Tavares MG. (2010) Cytogenetic characterization of *Partamona cupira* (Hymenoptera, Apidae) by fluorochromes. **Genetics and Molecular Biology**, 33(2): 253-255. DOI: 10.1590/S1415-47572010005000029.

Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, 40: 293-297.

Praça M, FERNANDES A, WERNECK H, CAMPOS LAO, Drummond M, Lopes DM. (2010) Contribuição ao estudo citogenético de espécies do gênero *Trigona*

(Hymenoptera: Apidae: Meliponini). In: **IX Encontro sobre Abelhas**, Ribeirão Preto.

Rocha MP. (2002) Análises citogenéticas em abelhas do gênero *Melipona* (Hymenoptera, Meliponinae). Doctoral thesis, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brazil.

Rocha MP, Pompolo SG and Campos LAO. (2003) Citogenética da tribo Meliponini (Hymenoptera, Apidae). **Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure**. Criciúma: UNESC, 311-320.

Rocha MP, Pompolo SG, Fernandes A, Campos LAO. (2007) *Melipona*: seis décadas de citogenética. **Bioscience Journal**, 23: 111-117.

Schweizer D. (1976) Reverse fluorescent chromosome banding with Chromomycin and DAPI. **Chromosoma**, 58: 307-324.

Sumner AT. (1990) **Chromosome banding**. London: Unwin Hyman, 434pp.

Sumner AT. (2003) **Chromosomes: Organization and Function**. Blackwell Science Ltd, London, 302pp.



O periódico *Evolução e Conservação da Biodiversidade*, ISSN 2236-3866, foi licenciado com uma Licença Creative Commons - Atribuição - NãoComercial - SemDerivados 3.0 Não Adaptada. Com base no trabalho disponível em www.simposiodabiodiversidade.com.br/ecb. DOI: 10.7902/issn.2236-3866