



ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO DE HIDROCARBONETOS CUTICULARES NOS DIFERENTES ESTÁGIOS PÓS-EMBRIONÁRIO DA VESPA *MISCHOCYTTARUS CONSIMILIS* ZIKÁN (HYMENOPTERA, VESPIDAE)

Kamylla Balbuena Michelutti¹; William Fernando Antonialli Junior¹; Claudia Andréa Lima Cardoso¹

¹Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 79804-970 Dourados-MS, Brasil; kamylla_michelutti@yahoo.com.br.

RESUMO

Os insetos possuem uma cutícula composta por hidrocarbonetos essenciais que primariamente atuam contra a dessecação e também como barreira para microorganismos. Outra função primordial dos hidrocarbonetos nos insetos é servir como sinal durante interações comunicativas entre companheiros do ninho. Estes compostos estão presentes desde a fase de ovo até adulto e servem para os indivíduos da colônia identificar estes diferentes estágios durante suas interações. Contudo, ainda pouco se sabe sobre como é a evolução da composição destes sinais ao longo do desenvolvimento pós-embrionário de vespas sociais. Portanto, objetivo deste trabalho é investigar a presença de possíveis variações entre os compostos químicos cuticulares ao longo do desenvolvimento pós-embrionário de *Mischocyttarus consimilis* por meio da técnica de cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (CG-DIC). Como resultado, é possível confirmar que há uma variação significativa dos compostos cuticulares ao longo de todo o desenvolvimento até a fase adulta.

Palavras-chave: Comunicação química, Cromatografia gasosa, Feromônios de superfície.

INTRODUÇÃO

A cutícula dos insetos, traço importante para o sucesso deste grupo, é coberta por uma camada de lipídios, que agem como proteção contra a dessecação, ela é formada por hidrocarbonetos HCs essenciais portadores de comprimentos de cadeia carbônica de 20-40, sobretudo por alcanos lineares de cadeia longa, e também por alcenos, monometil alcanos ramificados e polimetil alcanos (LORENZI et al., 2004; MARTIN et al., 2004; ZHU et al., 2006).

Outra função importante dos HCs é no que diz respeito a comunicação, seja ela entre indivíduos de uma mesma espécie ou entre indivíduos de espécies diferentes e, quando

envolvidos na comunicação intraespecífica, funcionam como um tipo específico de feromônios, assim denominados de feromônios superficiais, ou de contato (COTONESCHI et al., 2007; BLOMQUIST & BAGNÉRES, 2010). De fato, feromônios são divididos em duas categorias: moléculas voláteis leves secretadas pelas glândulas e aqueles de cadeias longas de HCs encontrados na cutícula (HOWARD, 1993). Os feromônios superficiais, portanto, se enquadram nesta última categoria.

Os Hymenoptera sociais de fato representam um grupo bem estudado no que diz respeito a capacidade de reconhecimento (COTONESCHI et al., 2007). De acordo com Downing, (1991) já na superfície de ovos recém colocados, há hidrocarbonetos e outras substâncias químicas que se originam a partir da fêmea que o pôs, sendo que, durante a passagem do ovo pelo oviduto também passa pela saída da glândula de Dufour que pode então, agir como uma fonte marcadora de ovo (BILLEN, 2008).

Cotoneschi et al. (2007) observou que substâncias epicuticulares larvais são suficientes para o reconhecimento das larvas, sendo que, as vespas são capazes de discriminar pequenas variações nos odores emitidos pelas larvas na colônia. Além disso, Zhu et al. (2006) encontrou diferenças significativas na composição de hidrocarbonetos cuticulares de acordo com a idade das larvas da mosca *Chrysomya rufifacies* indicando a importância da composição cuticular na determinação da idade dessas larvas.

M. consimilis é uma vespa social Neotropical, anteriormente restrita ao Paraguai, mas também dispersa ao sul do Mato grosso do Sul e também ao oeste do Paraná. Suas colônias são fundadas por uma ou várias fêmeas e seus ninhos são compostos por um único favo preso ao substrato por um único pedúnculo central (TORRES et al., 2011).

O objetivo desse estudo foi avaliar se existe variação entre os compostos cuticulares dos diferentes estágios, ao longo do desenvolvimento pós-embrionário.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas 04 colônias da vespa *M. consimilis* em fase de pós-emergência entre junho de 2013 a fevereiro de 2014 em Dourados-MS. Para a análise da variação da composição de alcanos lineares para todos os estágios de desenvolvimento pós-embrionário foram utilizadas as quatro colônias.

Todas as colônias foram retiradas do seu sítio de nidificação ao anoitecer, envolvendo-as com um recipiente plástico em torno do ninho e em seguida despregando o pedúnculo do substrato de fixação.

Após as coletas, os indivíduos foram mortos por congelamento e seus gásteres separados do resto do corpo e armazenados individualmente em ependorfs, e, em seguida,

conservados em freezer (-20°C) para as posteriores análises. Ovos, larvas e pupas foram mensurados com o auxílio de uma Lupa modelo Leica S6D acoplada a uma ocular micrométrica.

As larvas foram classificadas de acordo com o ínstar larval seguindo a metodologia de Dyar (Parra & Haddad, 1989). Para avaliar a composição química da cutícula das larvas foram utilizadas 10 amostras de cada estágio larval, totalizando 80 amostras.

Para a extração dos compostos cuticulares foram utilizados indivíduos inteiros, exceto para os adultos, que foram avaliados sem o gáster, o qual foi utilizado para outras análises. A avaliação de possíveis variações na composição de alcanos lineares na cutícula dos imaturos, adultos e ninhos foi tomada através da técnica de cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (CG-DIC).

Cada amostra foi imersa em um vidro de penicilina composto por 2000µL de hexano durante 2 minutos. Posteriormente o soluto, resultante da extração, foi sujeito à secagem com o auxílio de capela e congelados por no máximo 30 dias. Para as análises cromatográficas cada extrato foi dissolvido em 50 µL de hexano. A mistura padrão de C₁₄-C₃₄ foi preparada na concentração de 4.0 µg mL⁻¹ em hexano (grau HPLC-TEDIA).

As amostras e a mistura padrão de alcanos lineares foram analisadas empregando um cromatógrafo a gás com detector de ionização em chama (Thermo Scientific – Focus GC, San Jose, CA, USA), com coluna capilar OV-5 (Ohio Valley Specialty Company, Marietta, OH, USA) 5% fenil dimetilpolisiloxano (30 m de comprimento x 0.25 mm de diâmetro interno x 0.25 µm de espessura de filme). Injeção de 1 µL em modo splitless. Temperaturas do injetor e detector foram de 280 °C. N₂ (99.999%) como gás carregador e com velocidade de fluxo de 1.0 mL min⁻¹. Rampa de aquecimento com temperatura inicial de 130 °C alcançando 280°C à 8°C min⁻¹ e permanecendo à 280°C por 20 minutos. Os cromatogramas foram registrados pelo programa Chrom Quest 5.0 e analisados pelo programa Workstation Chrom Data Review.

Para o tratamento dos dados, os alcanos lineares analisados por CG-DIC nos estágios de desenvolvimento da vespa *M. consimilis* foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões de C₁₄-C₃₄.

Para a análise estatística foi utilizada a área relativa percentual de cada alcano, a análise estatística empregada foi a discriminante multivariada empregando o Software SYSTAT 12, realizada com o objetivo de constatar diferenças significativas entre os diferentes estágios da vespa eussocial *M. consimilis*. Após a análise estatística os dados selecionados foram Wilk's lambda, *F* e *P*. O Wilk's lambda é um parâmetro da medida da

diferença entre os grupos, sendo que valores próximos de 0 (zero) indicam que não há sobreposição dos grupos e valores próximos de 1 (um) indicam alta sobreposição entre os grupos. Altos valores de F mostram uma maior significância dos dados e P é empregado para indicar se os dados são significativos ou não, sendo que valores menores que 0,05 indicam diferenças significativas entre os grupos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As medidas de larguras das cápsulas cefálicas de um total de 316 larvas de *M. consimilis* indicaram pelos declives da curva de distribuição de frequência a existência de cinco picos distintos, sugerindo a ocorrência de cinco instares larvais. Os intervalos médios de largura da cápsula cefálica das larvas foram: 1º instar (0.37-0.55 mm), 2º instar (0.62-0.77 mm), 3º instar (0.9-1.1 mm), 4º instar (1.27-1.55 mm) e 5º instar (1.85-2.12 mm).

Os resultados obtidos para o número de instares larvais de *M. consimilis* concordam com aqueles registrados para as espécies *Mischocyttarus cassununga* e para a vespa social de fundação por enxameagem *Apoica pallens* (GIANNOTTI & FIERI, 1991; SILVA et al., 2006). Entretanto, discorda de Cumber (1951) que descreveu quatro instares larvais para *Polistes humilis*.

De acordo com a análise discriminante, os diferentes grupos da região de Dourados apresentam diferenças significativas entre os compostos químicos cuticulares dos diferentes estágios de desenvolvimento (Wilks's Lambda=0.001; $F=149.941$; $p<0.001$; Fig. 01).

Yoon et al. (2012), em estudo com o percevejo *Riptortus pedestris*, verificou diferenças qualitativas na composição cuticular de ovos e demais estágios de desenvolvimento, sendo que somente no estágio de ovo, não foram detectados os compostos C_{28} e C_{30} . Diferentemente, em nosso estudo os picos de alcanos lineares mais significativos para distinguir quantitativamente os diferentes estágios foram do C_{17} - C_{34} .

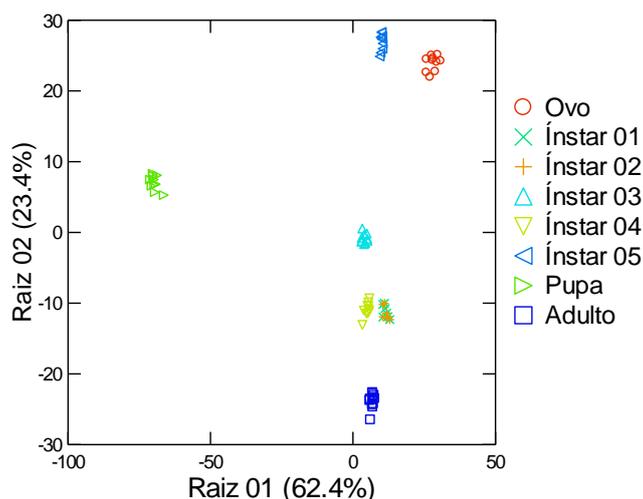


Figura 01. Análise discriminante dos alcanos analisados por CG-DIC ao longo dos estágios de desenvolvimento de colônias de *M. consimilis* de Dourados.

Ao comparar a variação entre os hidrocarbonetos existentes nas larvas de último ínstar e nos adultos de colônias de *P. dominulus*, Cotoneschi et al.(2007) encontrou uma assinatura química característica das larvas com diferenças nos padrões de HCs entre larvas e adultos, sendo que, os imaturos possuem uma maior abundância dos HCs de baixo peso molecular com uma variação de 66 compostos e os adultos com uma variação de 92 compostos.

Dessa forma é possível concluir que a vespa *M. consimilis* possui sua assinatura química característica, sendo que cada estágio colonial é constituído por diferentes compostos. Característica fundamental para a comunicação intracolonial.

AGRADECIMENTOS

CAPES e CNPQ.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BILLEN, J. A importância das glândulas exócrinas na sociedade de insetos. In: Vilela E, Vilela E.F., Santos I.A., Schoereder J.H., Serrão J.E., Campos L.A.O., Lino-Neto J, editors. **Insetos Sociais: Da biologia à aplicação**. Viçosa, Minas Gerais: Editora UFV. pp. 442, 2008.
- BLOMQUIST, G.J.; BAGNÉRES A.G. Insect Hydrocarbons Biology, Biochemistry, and Chemical Ecology. **Published in the United States of America by Cambridge University Press**, New York. 492p, 2010.
- COTONESCHI, C.; DANI, F.R.B.; CERVO, R.; SLEDGE, M.F.; TURILLAZZI, S. *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) larvae possess their own chemical signatures. **Journal of Insect Physiology**, 53:954–963, 2007.

- CUMBER, R.A. Some observations on the biology of the Australian wasp *Polistes humilis* Fabr. (Hymenoptera: Vespidae) in North Auckland (New Zealand) with special reference to the nature of the worker caste. **Proc. R.ent. Soe. Lond (A)**. 26:11-16, 1951.
- DOWNING, H.A. A role of Dufour's gland in the dominance interactions of the paper wasp, *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae). **Journal of Insect Behavior**, 4:274-278, 1991.
- GIANNOTTI, E.; FIERI, S.R. On the brood of *Mischocyttarus (Monocyttarus) cassununga* (Ihering 1903) (Hymenoptera. Vespidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. 35:263-267, 1991.
- HOWARD, R.W. Cuticular hydrocarbon and chemical communication. In: Insect lipids: chemistry, biochemistry and biology (Stanley-Samuels DW and Nelson DR, eds.). **University of Nebraska Press**, Lincoln, 179-226, 1993.
- LORENZI, M.C.; SLEDGE, M.F.; LAIOLO, P.; STURLINI, E.; TURILLAZZI. Cuticular hydrocarbon dynamics in young adult *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) and the role of linear hydrocarbons in nestmate recognition systems. **Journal of Insect Physiology**. 50: 935-941, 2004.
- MARTIN, S.J.; JONES, G.R.; CHÂLINE, N.; RATNIEKS, F.L.W. Role of hydrocarbons in egg recognition in the honeybee. **Physiological Entomology** 29:395-399, 2004.
- PARRA, J.R.P.; M.L. HADDAD. Determinação do número de instares de insetos. **Piracicaba: FEALQ**, p49, 1989.
- SILVA, C.A.D.; PIRES, E.M.; LACERDA, M.C.; PREZOTO, F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. Immature stages and nest characteristics of *Apoica pallens* (Hymenoptera, Vespidae). **Sociobiology**, 48(2):365-374, 2006.
- TORRES, V.O.; MONTAGNA, T.S.; FERNANDES, W.D.; ANTONIALLI-JUNIOR, W.F. Colony cycle of the social wasp *Mischocyttarus consimilis* Zikán (Hymenoptera, Vespidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. 55(2): 247-252, 2011.
- YOON, C.; YANG, J.O.; YOUN, Y.N.; KIM, G.H. Changes in cuticular hydrocarbons in different developmental stages of the bean bug, *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, 15:579-587, 2012.
- ZHU, G.H.; YE, G.Y.; HU, C; XU, X.H.; LI, K. Development changes of cuticular hydrocarbons in *Chrysomya rufifacies* larvae: potential for determining larval age. **Medical and Veterinary Entomology**, 20:438-444, 2006.