

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PARANÁ, *CAMPUS* DE UNIÃO DA VITÓRIA
COLEGIADO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CAMILA FERNANDA PAZ

ESTUDOS PRELIMINARES CITOGENÉTICOS NA ESPÉCIE *Acromyrmex crassispinus*
(FORMICIDAE: MYRMICINAE) NA REGIÃO DE UNIÃO DA VITÓRIA (PR)

UNIÃO DA VITÓRIA

2022

CAMILA FERNANDA PAZ

ESTUDOS PRELIMINARES CITOGENÉTICOS NA ESPÉCIE *Acromyrmex crassispinus*
(FORMICIDAE: MYRMICINAE) NA REGIÃO DE UNIÃO DA VITÓRIA (PR)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao colegiado de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Estadual do Paraná, *Campus* de União da Vitória, como requisito parcial à obtenção do título de licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Andreia Lorscheider
Coorientadora: Profa. Dra. Daniela Roberta Holdefer

UNIÃO DA VITÓRIA

2022

TERMO DE APROVAÇÃO

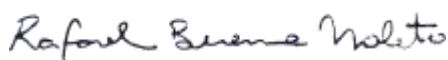
CAMILA FERNANDA PAZ

ESTUDOS PRELIMINARES CITOGENÉTICOS NA ESPÉCIE *Acromyrmex crassispinus*
(FORMICIDAE: MYRMICINAE) NA REGIÃO DE UNIÃO DA VITÓRIA (PR)

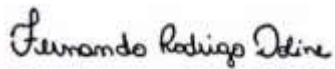
Trabalho de Conclusão de Curso aprovado com nota 8,3 como requisito parcial à obtenção do grau de licenciada em Ciências Biológicas, Colegiado de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Paraná, *Campus* de União da Vitória, pela seguinte banca examinadora:



Orientadora Profa. Dra. Carla Andreia Lorscheider
Colegiado de Ciências Biológicas, UNESPAR



Prof. Dr. Rafael Bueno Noleto
Colegiado de Ciências Biológicas, UNESPAR



Ms. Fernando Rodrigo Doline
Universidade Federal do Paraná, UFPR

UNIÃO DA VITÓRIA, 23 DE FEVEREIRO DE 2023

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| Introdução..... | 8 |
| Materiais e metodos..... | 10 |
| Resultados e discussão..... | 11 |
| Considerações finais..... | 15 |
| Referências..... | 16 |
| Anexo a – normas da revista..... | 18 |

Resumo: A citogenética auxilia no preenchimento das lacunas existentes na taxonomia, filogenia e evolução das espécies de formigas, bem como em diferenças cromossômicas entre populações que vivem em colônias e regiões brasileiras distintas, como marcadores populacionais. Desta forma, o trabalho teve como objetivo confirmar o número diplóide da espécie *Acromyrmex crassispinus* encontrada nas regiões de União da Vitória e Mallet, no estado do Paraná, e comparar com o número diplóide registrado para esta mesma espécie nos municípios de Viçosa e Ouro Preto no estado de Minas Gerais, a fim de ampliar as informações citogenéticas para a compreensão da taxonomia e evolução deste grupo. As colônias foram capturadas no período de novembro de 2021 a março de 2022, e mantidas no laboratório de pesquisa multidisciplinar da Universidade Estadual do Paraná, campus de União da Vitória, para obtenção das pupas em estágio específico de desenvolvimento e adquirir os cromossomos mitóticos em metáfase, para a montagem dos cariótipos. Os dados preliminares revelaram o $2n=38$ cromossomos para as populações coletadas em Mallet e União da Vitória, mostrando-se ser uma característica conservada entre as populações estudadas no Paraná e Minas Gerais. Entretanto, ao analisar os trabalhos realizados em Viçosa e Ouro Preto, pode-se ver diferenças na macroestrutura cromossômica com diferenças na fórmula cariotípica, sendo encontrado em Viçosa $2M + 6SM + 16ST + 14A$ e em Ouro Preto $12M + 20SM + 4ST + 2A$. A montagem definitiva dos cariótipos foi inviabilizada pela qualidade das imagens dos cromossomos, no entanto, dados preliminares das tentativas de montagem revelaram um número baixo de cromossomos acrocêntricos, dessa forma, espera-se que as duas populações tenham a mesma fórmula cariotípica. Novas coletas serão realizadas no próximo verão com o objetivo de padronizar o número diploide e a montagem do cariótipo.

Palavras-chave: Cromossomo. Formigas. Número diploide

Abstract: Cytogenetics helps to fill gaps in the taxonomy, phylogeny and evolution of ant species, as well as chromosomal differences between populations living in colonies and different Brazilian regions, as population markers. Thus, the objective of this work was to confirm the diploid number of the species *Acromyrmex crassispinus* found in the regions of União da Vitória and Mallet, in the state of Paraná, and to compare it with the diploid number registered for this same species in the municipalities of Viçosa and Ouro Preto in the state of Minas Gerais, in order to expand the cytogenetic information for understanding the taxonomy and evolution of this group. Colonies were captured from November 2021 to March 2022, and kept in the multidisciplinary research laboratory of the State University of Paraná, União da Vitória campus, to obtain pupae at a specific stage of development and acquire mitotic chromosomes in metaphase. , for the assembly of karyotypes. Preliminary data revealed $2n=38$ chromosomes for the populations collected in Mallet and União da Vitória, proving to be a conserved characteristic among the populations studied in Paraná and Minas Gerais. However, when analyzing the works carried out in Viçosa and Ouro Preto, one can see differences in the chromosomal macrostructure with differences in the karyotypic formula, being found in Viçosa $2M + 6SM + 16ST + 14A$ and in Ouro Preto $12M + 20SM + 4ST + 2A$. The definitive assembly of the karyotypes was made unfeasible by the quality of the chromosome images, however, preliminary data from the assembly attempts revealed a low number of acrocentric chromosomes, thus, it is expected that the two populations have the same karyotypic formula. New collections will be carried out next summer with the objective of standardizing the diploid number and the assembly of the karyotype.

Keywords: Chromosome. Ants. Diploid number

Introdução

As formigas compõem um importante grupo que habita áreas urbanas e rurais, mas ainda pouco estudadas quando comparadas com outros insetos como borboletas e besouros (LUTINSKI *et al.*, 2013). São consideradas “engenheiras do ecossistema” devido aos inúmeros serviços ecológicos que oferecem e o impacto das suas interações com o ambiente (SCHREINER, 2021). As formigas são eussociais, pois apresentam características como cuidado cooperativo com a prole, sobreposição de gerações dentro de um mesmo ninho e divisão reprodutiva do trabalho. O sistema de reprodução sexual observado nas formigas em geral é a partenogênese arrenótoca, em que os machos são haploides e as fêmeas são diploides (TEIXEIRA, 2018).

A família Formicidae é considerada monofilética e as espécies descritas são agrupadas em 17 subfamílias, sendo amplamente distribuídas biogeograficamente, à exceção de oceanos e regiões polares. Por vezes são consideradas pragas, agentes de controle biológico ou ainda bioindicadores de diversidade (MARIANO, 2004). Formicidae é constituída por 16 subfamílias (ANTWEB, 2022), dentre elas, Myrmecinae é a mais representativa no mundo, com mais de 6700 espécies em 155 gêneros, são extremamente adaptáveis aos mais diversos habitats, exceto Ártico e Antártica (ANTIWIKI, 2022). Os gêneros *Acromyrmex* e *Atta* cultivam fungos dentro de seus ninhos e em alguns casos, são consideradas pragas agrícolas, pois são cortadoras de folhas verdes, por isso a maioria dos estudos para ambos gêneros se concentram em ecologia, distribuição e controle populacional (LOECK *et al.*, 2003). As informações sistemáticas são escassas, e uma revisão com um quadro completo de suas relações filogenéticas são necessárias (DE CASTRO *et al.*, 2020).

A tribo Attini pertence à família Formicidae e a subfamília Myrmicinae, compreendendo mais de 200 espécies distribuídas em 12 gêneros, dentre as quais 45 espécies são as formigas cortadeiras pertencentes aos gêneros *Acromyrmex* e *Atta*. Ocorrem exclusivamente nas Américas e têm maior diversidade nas regiões neotropicais (DINIZ; BUENO, 2007; SANTOS; CAZETTA, 2016). A principal novidade evolutiva das formigas pertencentes a esta tribo é a sua relação mutualista com fungos, geralmente pertencentes a família *Agaricaceae*. Possivelmente essa relação surgiu há mais de 50 milhões de anos, mudando seu estilo de vida predadora/coletora para agricultora. Este tipo de interação foi possível devido a sua característica biológica de conseguir coletar materiais diversos os utilizando como substrato para o crescimento do fungo, desenvolvendo então um conjunto de comportamentos a respeito da preparação do substrato (DINIZ; BUENO, 2007).

As formigas Attini coletam material vegetal fresco para o cultivo dos fungos e possuem sistema de trabalho polimórfico de castas, seus ninhos são enormes e forrageiam em grandes distâncias e com recrutamento de massa, já as demais espécies pertencentes a outros gêneros de Attini

cultivam o fungo em material vegetal em decomposição, entre outros resíduos decompostos, seus ninhos são pequenos e com operárias monomórficas que forrageiam de forma solitária no solo (LEAL; OLIVEIRA, 2000; MUELLER *et al.*, 2001).

As formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* são amplamente distribuídas desde o sul dos Estados Unidos até o centro da Argentina, sendo a maior diversidade de espécies encontradas no Brasil. São descritas na literatura atual 18 espécies e oito subespécies (AUGUSTIN *et al.*, 1999). No Rio Grande do Sul (RS), as formigas cortadeiras predominantes pertencem aos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*. São encontradas dez espécies de formigas cortadeiras pertencentes ao gênero *Acromyrmex* nesta região. A identificação das formigas deste gênero é mais complexa do que as do grupo pertencentes ao gênero *Atta*, já que não existem formigas soldados, sendo feita a identificação a partir das operárias maiores. No entanto, esse parâmetro é variável de acordo com a idade do ninho, época do ano e variabilidade fenotípica (GRUTZMACHER *et al.*, 2007). São formigas que se destacam devido a sua interação mutualística com fungos, de onde provém o nome formigas cultivadoras de fungos. Esse cultivo ocorre no interior dos ninhos das formigas, denominados “jardins de fungos”, as formigas são responsáveis por nutrir o fungo com material específico como folhas, de onde surge o nome popular “formigas cortadeiras” pois cortam as folhas e as carregam para o ninho, além de protegê-lo de parasitas e predadores. Em contrapartida, os fungos degradam moléculas complexas que são utilizadas como principal fonte de alimento das larvas e as hifas fúngicas compõem a dieta das formigas adultas (SANTOS; CAZETTA, 2016). É conhecido que essas formigas preparam o substrato inicialmente com lambidas na superfície, logo após depositar o líquido fecal (mistura de enzimas fúngicas) e por fim quebram o substrato até este ser transformado em partículas muito pequenas, essas partículas então são incorporadas aos jardins de fungos (ANDRADE *et al.*, 2002).

A taxonomia do gênero *Acromyrmex* é considerada como sendo uma das mais difíceis da família Formicidae, devido às espécies serem muito variadas e polimórficas, tendo proporção de tamanho variadas para os espinhos presentes no tórax e na cabeça entre colônias e até mesmo entre indivíduos pertencentes a uma mesma colônia, além de apresentar frequentemente assimetria lateral da cabeça. Devido a estas razões torna-se necessária a utilização de características genéticas para distinguir os indivíduos (DIEHL, 1995). Este tipo de disfunção em espécimes de uma mesma colônia pode ser observado na espécie *Acromyrmex crassispinus*, cujo nome popular é Quenquém de cisco, são formigas cortadeiras que tem como padrão formigueiros pequenos e de poucos compartimentos (AGROLINK, 2021).

A. crassispinus é a formiga cortadeira mais encontrada na região sul do Brasil, possui coloração geralmente preta ou castanha enegrecida, e as operárias maiores têm em torno de 7mm.

São caracterizadas pelos espinhos pronotais inferiores com a ponta curvada para trás e pelos tubérculos do gáster numerosos, proeminentes, pontiagudos e reunidos no terço anterior do gáster (GONÇALVES, 1961).

Poucos estudos citogenéticos foram realizados em formigas, possivelmente pela dificuldade da identificação taxonômica pelos citogeneticistas, como a técnica de obtenção cromossômica que necessita da coleta correta do tecido em divisão celular nas pupas. Aliar as duas áreas, com um grupo de pesquisa com ambos pesquisadores, ampliam as possibilidades de análises e estudos em formigas. Com ocorrência no Paraná, a espécie de *A. crassispinus* não foi analisada citogeneticamente na região Sul do Brasil, com estudos apenas no estado de Minas Gerais, assim ampliar os dados da macroestrutura cromossômica auxiliará na compreensão nos processos evolutivos da espécie e gênero. Assim, o presente trabalho objetivou coletar, obter cromossomos e analisar citogeneticamente a espécie de *A. crassispinus* no Paraná (região de União da Vitória e Mallet). Embora o grupo de pesquisa em Citogenética de anfíbios e peixes são consolidados no Campus de União da Vitória da Unespar, obter cromossomos em formigas é algo novo para o grupo, assim como a padronização das técnicas, coletas e análises.

O Objetivo deste trabalho foi determinar o número diploide de *Acromyrmex crassispinus* coletadas nos municípios de União da Vitória e Mallet, estabelecer os padrões citogenéticos da espécie e ampliar as informações do gênero, e por fim, fortalecer o grupo de Pesquisa, Biodiversidade e Conservação, unindo a taxonomia e a citogenética de formigas.

Materiais e Métodos

Foram coletados três ninhos de *Acromyrmex crassispinus* nos municípios de União da Vitória – PR e Mallet - PR, com formigas adultas, pupas e fungos. Os espécimes foram transportados vivos, em uma caixa de transporte, para o laboratório multidisciplinar da Universidade Estadual do Paraná, Campus União da Vitória. Os espécimes adultos foram identificados pela Dra. Daniela R. Holdefer e depositados na coleção do laboratório de Ecologia de Insetos da Universidade Estadual do Paraná, Campus União da Vitória. As colônias foram mantidas em laboratório para obtenção das pupas em estágio específico de desenvolvimento. Em seguida, houve a realização dos procedimentos de estimulação de metáfases mitóticas e técnicas decorrentes.

Inicialmente ocorreu a triagem do material, objetivando selecionar indivíduos em estágio de larva pós-defecantes, também chamado de pré-pupa, o estágio é caracterizado pela presença do mecônio e a formação inicial da mandíbula. Após, foram selecionadas 60 pré-pupas de cada ninho,

totalizando 30 pré-pupas para obtenção cromossômica, ou seja, 30 pré-pupas em que o gânglio foi retirado com sucesso. Dessas 30 pupas cuja extração do gânglio teve sucesso, foi possível a obtenção cromossômica em 15 lâminas.

Seguindo o protocolo de Imai *et al.* (1994) com a utilização de um estereomicroscópio foram retirados os gânglios cerebrais das pré-pupas (Figura 1 - A e B) com auxílio de alfinetes entomológicos sob uma lâmina de extração, estes foram imersos individualmente em um recipiente contendo solução de colchicina hipotônica 0,005% (0,5 mL de solução de colchicina 0,1% / 9,5 mL de solução de Citrato de Sódio a 1%).

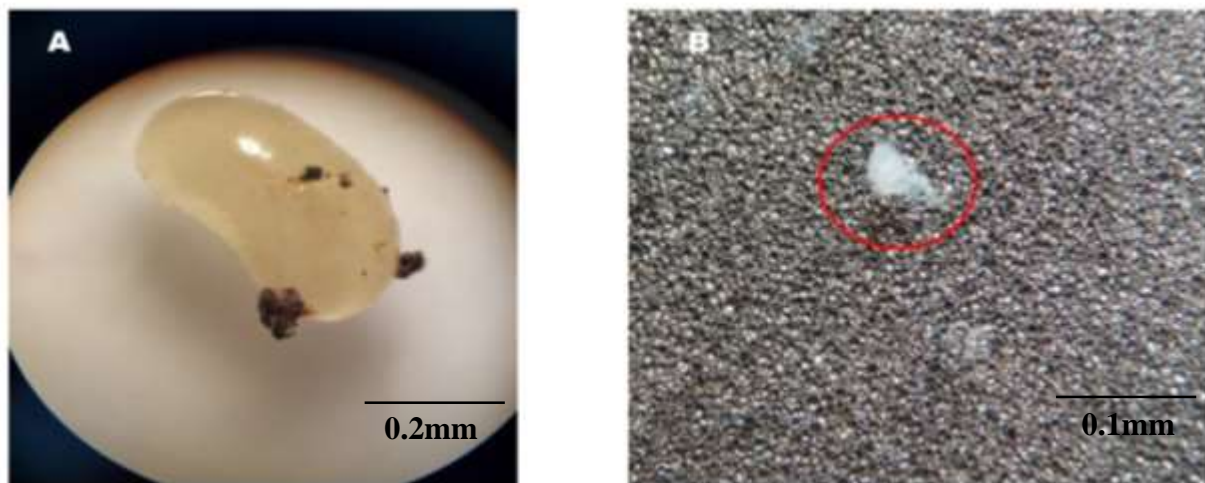


Figura 1 - Material coletado da espécie *Acromyrmex crassispinus*, em A) imagem de pupa da espécie *A. crassispinus* capturada em estereomicroscópio lupa binocular. Em B) imagem de gânglio da espécie *A. crassispinus* capturada em estereomicroscópio lupa binocular logo após ser retirado da pupa, sendo observado em campo escuro para melhor visualização. Fonte: A autora, 2022.

Posteriormente com auxílio de uma pipeta “Pasteur”, os gânglios foram transferidos individualmente para lâminas previamente limpas, após a drenagem do excesso de solução colchicina-hipotônica, iniciando a dissociação dos gânglios e fixação do material. Para dissociação e início da fixação foram pingadas 2 gotas do fixador I (água destilada: etanol: ácido acético, 4:3:3) sob o gânglio, posteriormente dissociados com auxílio de alfinetes entomológicos, a fim de separar as células e espalhar o material sobre a lâmina. Antes de ocorrer a retração do tecido foi adicionado duas gotas do fixador II (etanol: ácido acético, 1:1) deixando agir durante 1 minuto. Após a evaporação do fixador II, foram adicionadas duas gotas de fixador III (ácido acético glacial 100%) finalizando a fixação. Após esta fase, as lâminas foram deixadas para secagem em temperatura ambiente durante 24 horas e coradas posteriormente.

As lâminas foram coradas com uma solução de Giemsa a 3% em tampão fosfato (pH 6,8), o corante preparado foi colocado sobre as lâminas cobrindo toda a sua extensão, permanecendo durante

20 minutos. Em seguida, foi retirado o excesso em água corrente. Após secagem as lâminas foram analisadas no microscópio óptico.

Foram analisadas 30 larvas, totalizando 30 lâminas submetidas à coloração convencional de Giemsa de cada colônia, tendo encontrado cromossomos em 15 destas lâminas. Cada lâmina foi analisada no microscópio de campo claro de epifluorescência, sendo utilizado somente o campo claro. As melhores metáfases foram capturadas com utilização de software Zeiss, AXIO LabA1, Fluorescência, com a câmera Axioca ICC 1. As fotografias dos cromossomos foram recortadas no programa Photoshop. Não foi possível a montagem dos cariótipos.

Resultados e Discussões

O campo da sistemática e filogenética foram os mais favorecidos e com avanços marcantes devido ao início da utilização da genética molecular para compreender a evolução das formigas (MOREAU, 2009). A filogenia e os clados das formigas cultivadoras de fungo são relativamente bem estruturadas, com reconstruções evolutivas sendo feitas a partir de dados genômicos (MICOLINO, 2020). Dentro da ordem Hymenoptera foram mapeados os números cromossômicos de 800 espécies de formigas, no entanto não são todas em que os estudos definiram o seu cariótipo. Em análises de cromossomos mitóticos pode-se observar o número e morfologia cromossômica, diferenciação de espécies, nível de parentesco e processos evolutivos. No entanto, devido ao grande número de espécies que compõem esta ordem os dados citogenéticos existentes são considerados extremamente escassos (KANDUL; LUKHTANOV, 2006; LORITE; PALOMEQUE, 2010; MARIANO *et al.*, 2015).

Em *Acromyrmex*, 55 espécies são descritas para o Sul dos Estados Unidos ao Sul da América do Sul, com predominância na região Neotropical (ANTIWIKI, 2022). Os estudos citogenéticos em formigas têm grande aplicabilidade em áreas como evolução e conservação de espécies. Para o gênero de *Acromyrmex*, 17 espécies foram analisadas, em sua maioria no estado de Minas Gerais, com número diploide de $2n=22$ cromossomos em *Acromyrmex* sp. (DOLINE *et al.*, 2020) e $2n=38$ cromossomos para todas as demais espécies (Tabela 1).

Tabela 1: Número diploide das espécies de *Acromyrmex* estudadas na América do Sul.

| Espécies de <i>Acromyrmex</i> | Localização | 2n | Referência |
|----------------------------------|-------------|----|-----------------------------|
| <i>A. ambiguus</i> (Emery, 1888) | Uruguai | 38 | GOÑI <i>et al.</i> (1983) |
| | SP - Brasil | | CASTRO <i>et al.</i> (2020) |

| | | | |
|--|--------------------------------|----|--|
| <i>A. ameliae</i> (De Souza, Soares e Della Lucia, 2007) | MG – Brasil | 36 | BARROS <i>et al.</i> (2008) |
| <i>A. balzani</i> (Emery, 1890) | MG – Brasil Guiana Francesa | 38 | BARROS <i>et al.</i> (2016) AGUIAR <i>et al.</i> (2020) |
| <i>A. coronatus</i> (Fabricius, 1804) | MG – Brasil PR - Brasil | 38 | BARROS <i>et al.</i> 2016 CARNEIRO <i>et al.</i> 2022 |
| <i>A. crassispinus</i> (Forel, 1909) | MG - Brasil | 38 | FADINI; POMPOLO (1996) CASTRO <i>et al.</i> (2020) |
| <i>A. disciger</i> (Mayr, 1887) | MG – Brasil | 38 | BARROS <i>et al.</i> (2016) |
| <i>A. echinator</i> (Forel, 1899) | MG-Brasil | 38 | BARROS <i>et al.</i> (2016) |
| <i>A. heyeri</i> (Forel, 1899) | Uruguai RS - Brasil | 38 | GOÑI <i>et al.</i> (1983) SANTOS-COLARES <i>et al.</i> (1997) |
| <i>A. hispidus</i> (Santschi, 1925) | Uruguai | 38 | GOÑI <i>et al.</i> (1983) |
| <i>A. lobicornis</i> (Emery, 1888) | PR – Brasil | 38 | DOLINE <i>et al.</i> (2020) |
| <i>A. molestans</i> (Santschi, 1925) | MG – Brasil | 38 | FADINI; POMPOLO (1996) |
| <i>A. niger</i> (Smith, F. 1858) | MG – Brasil | 38 | BARROS <i>et al.</i> (2016) |
| <i>A. rugosus</i> (Smith, F. 1858) | MG – Brasil | 38 | BARROS <i>et al.</i> (2016) CASTRO <i>et al.</i> (2020) |
| <i>A. subterraneus subterraneus</i> (Forel, 1912) | MG – Brasil | 38 | FADINI; POMPOLO (1996) |
| <i>A. subterraneus brunneus</i> (Forel, 1912) | MG – Brasil | 38 | BARROS <i>et al.</i> (2008) |

Fonte: Carneiro *et al.*, 2022 com alterações.

Esses estudos em formigas mostraram variações cariotípicas nítidas entre os táxons morfológicamente complexos estudados, o que permite distingui-los, seja em relação ao número, morfologia cromossômica, padrão de bandeamentos cromossômicos e/ou a distribuição das regiões de genes ribossomais, auxiliando na taxonomia dos mesmos (TEIXEIRA, 2018). É comum que organismos apresentem variações entre cromossomos homólogos referente a tamanho ou intensidade no padrão de coloração das marcações observadas a partir de técnicas citogenéticas. Estas variações são chamadas de heteromorfismo cromossômico e indicam diferentes formas cromossômicas que não

necessariamente são descontínuas e, ainda, não obrigatoriamente ocorrem juntas no mesmo habitat (SUMNER, 2008; TEIXEIRA, 2018).

Adicionalmente, estudos citogenéticos realizados para Formicidae apontam que as mudanças cariotípicas seguiram a diversidade de espécies e gêneros de formigas, sendo as modificações causadas por fissões cromossômicas as maiores responsáveis pela evolução cariotípica de Formicidae (LORITE; PALOMEQUE, 2010; CARDOSO, 2013). Portanto, a caracterização dos cariótipos é de extrema importância para a continuação dos estudos evolutivos, visto que fornecem a possível trajetória evolutiva dos cariótipos das formigas com os rearranjos cromossômicos e o que esses rearranjos interferem na divergência de linhagens (MICOLINO, 2020).

Com ocorrência no Paraná, a espécie de *A. crassispinus* foi analisada citogeneticamente na região Sul do Brasil no presente estudo. Os dados preliminares revelaram o $2n = 38$ cromossomos para as populações coletadas em Mallet (Figura 2) e União da Vitória (Figura 3). Não foi possível montar os cariótipos pela qualidade dos cromossomos nas imagens.

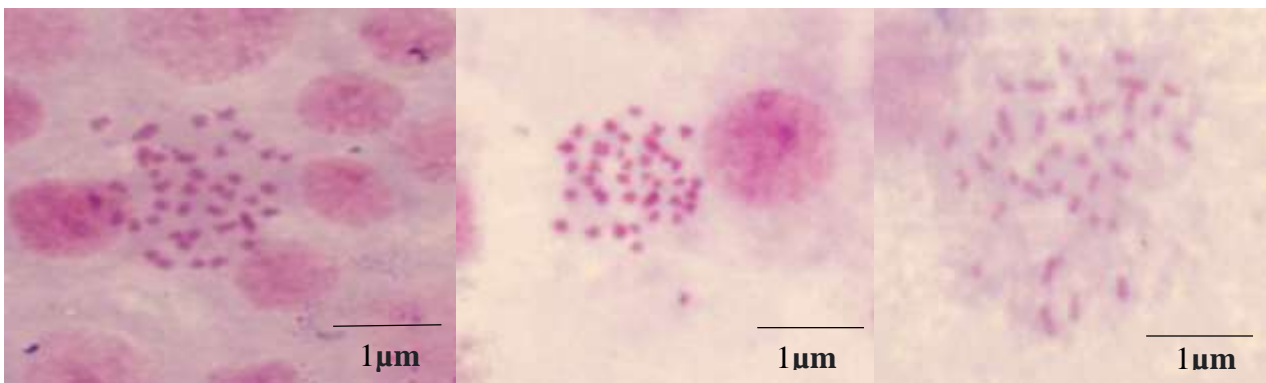


Figura 2 – Imagens de metáfase de 3 indivíduos de *Acromyrmex crassispinus* de ninhos coletados em Mallet – PR, que apresentaram $2n=38$. Coloração Giemsa e aumento de 1000x. Fonte: A autora, 2022.

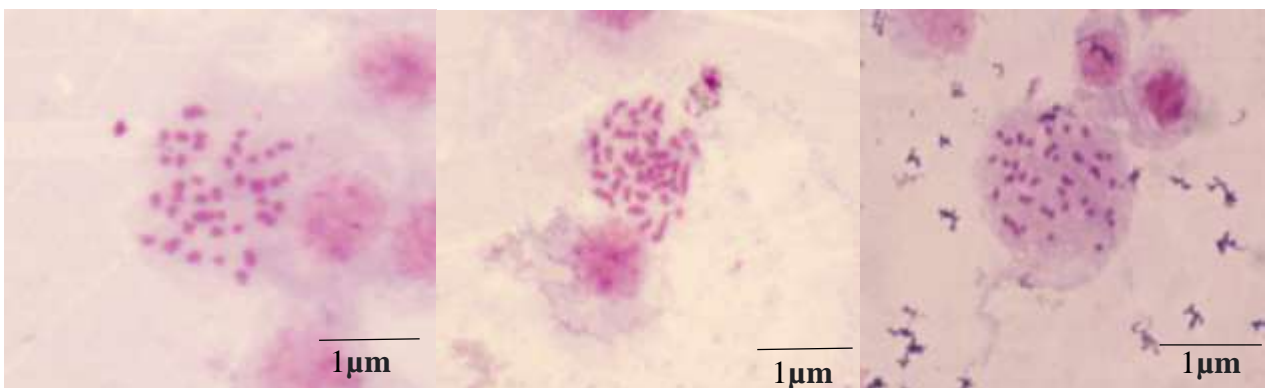


Figura 3 – Imagens de metáfase de 3 indivíduos de *Acromyrmex crassispinus* de ninhos coletados em União da Vitória-PR, que apresentaram $2n=38$. Coloração Giemsa e aumento de 1000x. Fonte: A autora, 2022.

Estudos citogenéticos em *A. crassispinus* foram realizados no estado de Minas Gerais (Tabela 2), o que permite a análise comparativa entre o número diploide das populações presentes

nos dois estados, assim como ampliar os dados da macroestrutura cromossômica para auxiliará na compreensão dos processos evolutivos da espécie e gênero.

Tabela 2 – Estudos citogenéticos em populações de *Acromyrmex crassispinus* em dois estados brasileiros.

| <i>Acromyrmex</i> | Localização | 2n | Fórmula Cariotípica | Referência |
|------------------------|--------------------------|----|-----------------------|-----------------------------|
| <i>A. crassispinus</i> | Viçosa - MG | 38 | 2M + 6SM + 16ST + 14A | FADINI; POMPOLO (1996) |
| <i>A. crassispinus</i> | Ouro Preto - MG | 38 | 12M + 20SM + 4ST + 2A | CASTRO <i>et al.</i> (2020) |
| <i>A. crassispinus</i> | Mallet - PR | 38 | - | Presente estudo |
| <i>A. crassispinus</i> | União da Vitória – PR | 38 | - | Presente estudo |

Fonte: A autora, 2022.

As análises possibilitam verificar que o $2n = 38$ cromossomos é uma característica conservada entre as quatro populações analisadas, entretanto, diferenças na macroestrutura cromossômica foram observadas em populações de *Acromyrmex crassispinus* coletadas em Viçosa e Ouro Preto (Minas Gerais), com diferenças na fórmula cariotípica (FADINI; POMPOLO, 1996; de CASTRO *et al.*, 2020). Dados preliminares, com tentativas de montagem do cariótipo para as populações de Mallet e União da Vitória (Paraná) revelam um número baixo de cromossomos do tipo acrocêntrico (2 cromossomos), assim, espera-se que essas populações tenham a mesma fórmula cariotípica entre si, o que pode indicar que as pressões seletivas em Ouro Preto sejam parecidas com as do Paraná.

Considerações finais

A escassez de dados citogenético de formigas se dá, provavelmente, pela dificuldade de identificação taxonômica e a técnica de obtenção cromossômica que necessita da coleta correta do tecido em divisão celular nas pupas. Aliar a área de identificação com a citogenética, ampliam as possibilidades de análises e estudos em formigas, e na Universidade Estadual do Paraná, campus União da Vitória, temos estes dois laboratórios que unidos permitem a realização deste trabalho, o qual favorece as oportunidades para os acadêmicos do curso de Ciências Biológicas ampliemos grupos de animais analisados, verificando as diferenças entre coletas e obtenção de cromossomos que são bem diversas.

Na região sul, diferente de outras regiões do estado como Minas Gerais, as estações do ano são bem típicas, com inverno rigoroso, e temperaturas a baixo de 0°C. Assim, verificou-se durante a pesquisa que o período de coleta deverá ocorrer nos meses de verão (novembro até março, pois em

outros períodos do ano, não encontramos ninhos com pupas em estágios adequados para a coleta do gânglio. Devido a pandemia do covid-19, e a liberação do uso dos laboratórios no Campus de União da Vitória, foi possível processar o material apenas nos meses de fevereiro e março de 2022, dessa forma, será ampliado os dados no próximo período de verão na região de coleta, para que seja possível a padronização do número diploide e montagem do cariótipo.

Referências

- AGROLINK. https://www.agrolink.com.br/problemas/quenquem-de-cisco_1926.html. Acesso em: 20 ago. 2021.
- ANDRADE, A. P. P *et al.* Comportamento de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) Durante o preparo do substrato foliar para cultivo do fungo simbiote. **Sociobiologia**, v. 40, n. 2, pág. 293-306, 2002.
- ANTIWIKI. <https://antwiki.org/wiki/Myrmicinae> Acesso em: 15 ago. 2022.
- ANTWEB. **Bolton World Catalog**. <https://www.antweb.org/> Acesso em: 15 ago. 2022.
- AUGUSTIN, E. *et al.* Identificação de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) através de isoenzimas. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 5, n. 3, p. 216-219, 1999
- BARROS, L. A. C. **Citogenética de espécies de Attini (Formicidae: Myrmicinae)**. 2010. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2010.
- BARROS, L. A. C. *et al.* Dados citogenéticos em seis formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* Mayr, 1865 (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae): percepções sobre a evolução cromossômica e implicações taxonômicas. **Citogenética comparativa**, v. 10, n. 2, pág. 229, 2016.
- BARROS, L. A. C. *et al.* Abordagem citogenética do processo de especiação da parasita social *Acromyrmex meliae* e das suas hospedeiras *A. subterraneus subterraneus* e *A. subterraneus brunneus* (Formicidae: Attini). In: **54º Congresso Brasileiro de Genética**, 2008, Salvador-BA.
- CARDOSO, D. C. **História evolutiva das espécies do gênero Mycetophylax Emery, 1913 (Hymenoptera: Formicidae): formigas endêmicas de restinga**. 2013. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2013.
- CARNEIRO, G. S.; *et al.* Levantamento de estudos citogenéticos em formigas cultivadoras de fungo (Hymenoptera: Formicidae) Myrmicinae. **Luminária**, União da Vitória, v.24, n. 02, p. 06 - 16, 2022.
- CRISTIANO, M. P. *et al.* Cytogenetic and molecular analyses reveal a divergence between *Acromyrmex striatus* (Roger, 1863) and other congeneric species: taxonomic implications. **Plos One**, v. 8, n. 3, 2013.

- CRISTIANO, M. P. **História evolutiva e filogeografia da formiga cortadeira *Acromyrmex striatus* (Roger, 1863) (Formicidae: Attini)**. 2013. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2013.
- DE CASTRO, C. P. M.; *et al.* Comparative FISH-mapping of TTAGG telomeric sequences to the chromosomes of leafcutter ants (Formicidae, Myrmicinae): is the insect canonical sequence conserved? **Comparative Cytogenetics**, v. 14, n. 3, p. 369–385, 2020.
- DIEHL, E. **Formigas: organização social e ecologia comportamental**. 1^oed. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 1995.
- DINIZ, E. A.; BUENO, O. C. Resumo expandido 036 a evolução dos comportamentos de preparação do substrato para o cultivo do fungo simbionte em da tribo. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 397-398, 2007.
- DOLINE, F. R. *et al.* Estudo citogenético de *Acromyrmex lobicornis* (Hymenoptera: Formicidae) ocorrentes no município de União da Vitória, Paraná. **Anais: Seminário de Integração: Pesquisa, Extensão, Cultura e Inovação Tecnológica (SIPEC)**, Campo Mourão, Unespar, 2020.
- FADINI, M. A. M.; POMPOLO, S. G. Cytogenetics of some ants species of the tribe *Attini* (Hymenoptera, Formicidae) from the region of Viçosa, MG. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 19, p. 53-55, 1996.
- GONÇALVES, C. R. O gênero *Acromyrmex* no Brasil (Hym. Formicidae). **Studia Entomologica**, v. 4, n. 1-4, p. 113-180, 1961.
- GRUTZMACHER, D. D. *et al.* Variabilidade genética interespecífica em formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* que ocorrem no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 37, p. 921-927, 2007.
- IMAI, H. T. *et al.* Experimental bases for the minimum interaction theory. I. Chromosome evolution in ants of the *Myrmecia pilosula* species complex (Hymenoptera: Formicidae: Myrmecinae). **Japan Journal Genetic**, v. 69, n. 2, p. 137-182, 1994.
- KANDUL, N.; VILA, R.; LUKHTANOV, V. Reorganização do grupo de espécies de *Agrodiaetus dolus* (Lepidoptera, Lycaenidae) usando uma nova abordagem citológica e dados moleculares. **Insect Systematics & Evolution**, v. 37, n. 3, p. 325-334, 2006.
- LEAL, I. R.; OLIVEIRA, P. S. Ecologia de forrageamento de formigas atinas em uma savana neotropical: uso sazonal de substrato fúngico na vegetação de cerrado brasileiro. **Insectes Sociaux**, v. 47, n. 4, p. 376-382, 2000.
- LOECK, A. E.; *et al.* Occurrence of leaf-cutting ants of the genus *Acromyrmex* in the main agricultural regions of the Rio Grande do Sul state. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 9, n. 2, p. 129–133, 2003.
- LORITE, P.; PALOMEQUE, T. Evolução do cariótipo em formigas (Hymenoptera: Formicidae), com uma revisão dos números cromossômicos conhecidos. **Myrmecological News**, v. 13, n. 1, p. 89-102, 2010.

- LUTINSKI, J.A; LOPES, B.C; MORAIS, A.B.B. Diversidade de formigas urbanas (Hymenoptera: Formicidae) de dez cidades do sul do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 13, p. 332- 342, 2013.
- MARIANO, C.S.F. **Evolução cariotípica em diferentes grupos de Formicidae**. 2004. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2004.
- MARIANO, C.S.F et al. **Citogenética e evolução do cariótipo em formigas poneromorfas. As formigas poneromorfas do Brasil**. Ilhéus: Editus. Editora da Universidade Estadual de Santa Cruz, p. 103-125, 2015.
- MICOLINO, R. **Estudos evolutivos em formigas – cultivadoras – de – fungo usando uma abordagem citogenética e molecular combinada**. 2020. Tese (Doutorado) – Universidade federal do Paraná, Curitiba, 2020.
- MOREAU, C.S. Inferindo a evolução das formigas na era dos dados moleculares (Hymenoptera: Formicidae). **Myrmecological News** , v. 12, p. 201-210, 2009.
- MUELLER, U. G. et al. A origem do mutualismo de fungo atino. **The Quarterly Review of Biology** , v. 76, n. 2, pág. 169-197, 2001.
- SANTOS, T.T; CAZETTA, M.L. Formigas da tribo Attini e sua interação com microorganismos. **Revista Científica da FHO/Uniararas**, v. 4, n. 1, 2016.
- SANTOS-COLARES, M. C.; *et al.* Preparation of mitotic chromosomes of leaf-cutting ants from the genera *Atta* and *Acromyrmex*. **Brazil Journal Genetic**, v. 20, p. 25-27, 1997.
- SCHREINER, M. **Modelo computacional para comparação de táxons: Filogenia global e mineração de dados na família Formicidae**. 2021. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2021.
- SUMNER, A. T. **Cromossomos: organização e função**. John Wiley & Sons, 2008.
- TEIXEIRA, G.A. **Citogenética clássica e molecular de formigas neotropicais**. 2018. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2018.

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA

Luminária

Anexo I – Revista Luminária

NORMAS PARA APRESENTAÇÃO DE ARTIGOS

- a) Os artigos deverão conter entre 10 e 30 páginas, respeitando-se a seguinte configuração: utilizar o editor de texto Word for Windows, papel em formato A4 (21 x 29,7 cm) com margens 2,0cm, com numeração de páginas.
- b) Os artigos submetidos à revista Luminária serão formatados e compatibilizados com o visual do formato do periódico.
- c) As condições de ortografia e sintaxe serão de responsabilidade do autor.

ESTRUTURA DE APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS

1. Primeira página

- a) Título do artigo: deve ser claro e objetivo. Deve estar escrito na mesma língua do texto, evitando-se abreviaturas, parênteses e fórmulas que dificultem a compreensão do conteúdo do artigo. Deve ser apresentado na primeira linha, centralizado e em negrito. Fonte: Times New Roman, tamanho 12, somente primeira letra em maiúscula.
- b) Nome(s) do(s) autor(es): deve-se indicar o(s) nome(s) de todos os autores do trabalho, por extenso. Após cada nome, inserir o nome da Instituição e sigla; o endereço eletrônico deverá ser indicado logo em seguida. Deve estar alinhado à direita, somente as iniciais dos nomes em maiúsculas.
- c) Resumo: deve ser redigido em português, independente da língua em que o texto estiver escrito. Colocar, antecedendo o texto, a palavra Resumo em caixa baixa (inicial maiúscula) e negrito. Redigir o texto em parágrafo único, espaço simples, justificado, de no máximo 300 palavras.
- d) Palavras-chave: indicar entre 3 a 5 palavras significativas do conteúdo do artigo, logo abaixo do resumo, separadas entre si por ponto-vírgula (;). Colocar o termo Palavras-chave em caixa baixa e negrito, primeira letra em maiúscula.
- e) Para o Título em inglês: seguir as mesmas normas indicadas para o título.
- f) Para o Abstract: seguir as mesmas normas indicadas para o resumo.
- g) Para Key-words: seguir as mesmas normas indicadas para palavras-chave.

2. Corpo do texto

- a) O texto do artigo científico deve conter os seguintes tópicos: Introdução contendo Material e Métodos ou, Metodologia; Desenvolvimento; Resultados; Discussão (Resultados e Discussão podem ser apresentados num mesmo tópico se os autores preferirem) e Considerações finais. Em casos especiais (p.ex. trabalhos essencialmente teóricos) será permitida a organização somente nos tópicos: Introdução, Desenvolvimento e Considerações finais. Os tópicos devem ser apresentados em negrito e caixa baixa, somente inicial em maiúscula.
- b) Fonte: Times New Roman, tamanho 12, alinhamento justificado ao longo de todo o texto e espaçamento 1,5 entre linhas.
- c) Citações: no corpo do texto, serão de até 03 linhas, entre aspas duplas. Quando maiores do que 03 linhas, devem ser destacadas fora do corpo do texto, com recuo de 4 cm da margem esquerda, com letra menor que a utilizada no texto (fonte 11), em espaçamento simples e sem aspas. As referências bibliográficas das citações ou menções a outros textos deverão ser indicadas, com as seguintes informações, entre parênteses: (sobrenome do autor em caixa alta, vírgula, ano da publicação). Exemplo: (COSTA, 2003). Quando as citações vierem incluídas

no corpo do texto, as citações devem ser expressas em minúsculo e somente com a inicial em maiúsculo e somente o ano entre parênteses. Exemplo: Costa (2003). Para dois autores (COSTA; SANTOS, 2010). Se for no texto Costa e Santos (2010). No caso de mais autores, usar *et al.* Exemplo: Costa *et al.* (2010) ou (COSTA *et al.*, 2010).

d) Notas explicativas: quando utilizadas, devem ser colocadas no rodapé da página e ser numeradas sequencialmente, sobrescritas com algarismos arábicos no decorrer do texto, devendo ter numeração única e consecutiva. Alinhamento justificado, espaçamento 10, mantendo espaço simples dentro da nota e entre as notas.

e) Subtítulos das seções: sem numeração, sem recuo de parágrafo, em itálico, com maiúscula somente a primeira palavra da seção. Exemplo: *Relação teoria e prática na formação de professores*. Não numerar: Introdução, Metodologia, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências.

f) Elementos ilustrativos: gráficos, mapas, tabelas, figuras, fotos, etc., devem ser inseridos no texto, logo após serem citados, contendo a devida explicação (legenda) na parte inferior (quando se tratar de ilustrações) ou superior (quando se tratar de tabelas ou quadros) da mesma e numeradas sequencialmente (ex. Figura 1. Modelos didáticos desenvolvidos por alunos do ensino médio da rede pública de ensino do município de União da Vitória, PR). No caso de imagens, usar formatos igual ou superior a 300dpi.

3. Referências

Colocadas logo após o término do artigo. Seguir normas da ABNT em uso. Em caso de dúvidas, você poderá usar links que formatam referências, como: <https://referenciabibliografica.net/>

Exemplos:

Artigo de periódico:

BARBOSA, M.C.; NAVARRO, V.M.; QUEIROZ, P.G. Física e arte nas estações do ano. **Revista Latino-Americana de Educação em Astronomia**, São Carlos, v. 13, n.1, p.33-54, 2004.

Obs. Neste caso nomes e segundo nomes dos autores podem ser abreviados sem espaço. Após o nome do periódico é usual a cidade onde o periódico é editado. Recomendamos padronização, se fizer para uma Livros e folhetos: HARBONE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. 3. ed. London: Academic Press, 1988. 382 p.

Obs. Em caso de mais autores abreviar como artigo de periódico.

Capítulos de livros:

ROMANO, G. Imagens da juventude na era moderna. In: LEVI, G.; SCHMIDT, J. (Orgs.). **História dos jovens 2: a época contemporânea**. São Paulo: Companhia das Letras, 1996. p. 7-16.

Monografias, dissertações e teses:

ARAUJO, U.A.M. **Máscaras inteiriças Tukúna: possibilidades de estudo de artefatos de museu para o conhecimento do universo indígena**. 1985. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Sociais)–Fundação Escola de Sociologia e Política de São Paulo, São Paulo, 1986.

Obs. Citar teses, monografias e dissertações da mesma forma.

Congresso, Conferências, Encontros e outros eventos:

RODRIGUES, M. V. Uma investigação na qualidade de vida no trabalho. In: ENCONTRO ANUAL DA ANPAD, 13., 1989, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: ANPAD, 1989. p. 455-46

Documentos em meio eletrônico:

BELLATO, M.A.; FONTANA, D.C. **El niño e a agricultura da região Sul do Brasil**. Disponível em: <<http://www.mac.usp.br/nino2>.> Acesso em: 6 abr. 2001.

Artigos

Política padrão de seção

Declaração de Direito Autoral

Todas as informações, opiniões, dados, referências, citações e posicionamentos expressos nos textos científicos publicados são de inteira responsabilidade dos seus respectivos autores/escritores, cabendo-lhes os elogios, as críticas e as possíveis consequências legais e jurídicas. Uma vez aceito para publicação, o autor concorda em ceder os direitos autorais da publicação do texto científico encaminhado à revista Luminária.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.