

DAVILEIDE DE SOUSA BORGES

**ESTUDOS CITOGENÉTICOS DE ESPÉCIES DA TRIBO ECTATOMMINI
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE: PONERINAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

B732e
2003

Borges, Davileide de Sousa, 1974-

Estudos citogenéticos de espécies da tribo Ectatommini (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae) / Davileide de Sousa Borges.- Viçosa: UFV, 2003.

45p.: il.

Orientador: Silvia das Graças Pompolo.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.

1. Formiga – Cariótipos. 2. Formiga – Heterocromatina. 3. Formiga – Citogenética. 4. Formiga – Taxonomia. 5. Hymenoptera. 6. Formicidae. 7. Ponerinae. 8. Ectatommini. 9. *Gnamptogenys*. 10. *Heteroponera*. 11. *Ectatomma*. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 19.ed. 595.7960487322

CDD 20.ed. 595.7960487322

Aos que amo, os quais representam tudo pra mim.

Aos meus pais Armino e Raimunda.

Aos meus irmãos David, Davilene e Dielma.

Aos meus sobrinhos Rodrigo e o pequeno Rodolfo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que nunca deixou de estar por perto, dando-me saúde, força e coragem sempre.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade oferecida para realização deste curso.

À Prof^a. Silvia das G. Pompolo, pelos primeiros passos na citogenética.

Ao Prof. Jacques H. C. Delabie, pela amizade, pelo incentivo, pelos ensinamentos ministrados durante o desenvolvimento desta pesquisa e pelos primeiros conhecimentos na Mirmecologia, meu muito obrigado.

À grande vencedora Cléa Mariano, pela amizade, confiança e incentivo sempre.

À Prof^a. Terezinha Della Lucia, pelo incentivo e ajuda.

Aos colegas do laboratório André, Marla, Bruno, Cynthia e a novata Elaine pelo companheirismo.

Aos professores Serrão e Lino, pela simpatia sempre.

Ao amigo Anderson, pela ajuda constante, pelas dicas e bons papos.

Ao José Estevão, pelo auxílio e pela amizade conquistada e boas risadas.

Ao Sr. Manoel, pela grande ajuda nas coletas de ninhos e pela amizade.

Ao Ivan, pela ajuda na identificação das formigas e amizade conquistada.

À amiga Solange, que foi fundamental para minha vinda a Viçosa, obrigada pela amizade, incentivo, companheirismo e apoio.

À grande amiga Neide Carvalho, pela força, pelos conselhos, incentivos em grandes momentos e pela amizade conquistada. Valeu Neidoca!

À Paula Andréa, pela ajuda, apoio, conselhos e amizade.

À José Raimundo, Crispim e Trovão, pelas coletas na CEPLAC/BA.

Aos colegas do laboratório de Mirmecologia da CEPLAC/BA, Lucimeire, Lucileide, Dayane, Adriane, Viviane e Luisa pela ajuda e amizade.

Aos amigos Marcelo, Fred, Eloísa, Lenira, Gabriela, Fadini, Leandro Bacci, Eliseu, André Crespo, Danival, Diolino, Hamilton, Cândida, Magno, pela amizade, força e apoio.

Aos amigos do “Toca” Raimundão, Raimundinho, Renato, Rodrigo, e o paraibano Uberlando pelas brincadeiras e amizade conquistada. Valeu!

A todos os colegas do curso de Entomologia Agrícola.

Aos professores e funcionários dos Departamentos de Biologia e Entomologia Agrícola pela simpatia e amizade.

À grande D. Paula, secretária do curso de Entomologia Agrícola, pelo carinho, amizade e profissionalismo com que trata a todos.

Ao Prof. Dominique Fresneau pelos ensinamentos nas coletas e confecção de ninhos de formigas.

Ao meu ex-orientador e amigo da UFMS, Prof. Valter Vieira Alves Júnior, pelos ensinamentos, força constante e confiança. Valeu mestre!

Aos meus amigos de Dourados/MS. Valeu a força!

À minha vovó Jerusa e à minha tia Helena pelo carinho e dedicação, e que não puderam participar do término de mais uma etapa. Saudades. (*in memoriam*).

As minhas sempre amigas, Claudilene, Claudinha, Mariene, Lúcia, Cristiane, Adriana, Simone, D. Iraildes e Raimundinha pela amizade, força e carinho sempre.

As minhas grandes incentivadoras, amigas, cúmplices e irmãs, Dielma e Davilene. Amo vocês .

Ao primogênito David, pelas orações, incentivo, força e pelo mel que mandava para eu ficar sempre forte. Amo você irmão.

Aos meus pais que mesmo de longe estiveram sempre presentes, agradeço pelas orações e grande incentivo sempre. Amo vocês.

Aos meus cunhados preferidos Milton e Vânia , pela força e incentivo sempre.

À FAPEMIG, pela concessão da bolsa de mestrado.

A todos que de alguma forma contribuíram para mais uma etapa da minha vida, agradeço.

“Queria ser apenas uma poça d’ água para refletir o céu”.

Dom Hélder Câmara

BIOGRAFIA

DAVILEIDE DE SOUSA BORGES, filha de Armino Alexandre Borges e Raimunda de Sousa Borges, nasceu em 26 de novembro de 1974, em Araguaina/TO.

Em março de 2000 graduou-se em Ciências Biológicas, Licenciatura Plena, na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul- UFMS.

Em abril de 2001 ingressou no Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese de mestrado em março de 2003.

ÍNDICE

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. As Ectatommini e sua importância em estudos biológicos	1
1.2. Citogenética	3
1.3. Rearranjos cromossômicos encontrados nos Formicidae	6
1.4. Teoria da Interação Mínima (TIM)	7
1.5. Método Cariográfico	8
1.6. Objetivos	9
2. MATERIAL E MÉTODOS	11
2.1. Locais de coletas	11
2.2. Gêneros e espécies coletados	12
2.2.1. <i>Gnamptogenys</i>	12
2.2.2. <i>Heteroponera</i>	13
2.2.3. <i>Ectatomma</i>	13
2.3. Técnica para obtenção de cromossomos metafásicos	14
2.4. Análise dos cromossomos	18
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
3.1. Análises dos cariótipos pela coloração convencional com Giemsa ..	24
3.1.1. Gênero <i>Gnamptogenys</i>	24
3.1.2. Gênero <i>Heteroponera</i>	26

3.1.3. Gênero <i>Ectatomma</i>	31
3.1.4. Relação de cromossomos metacêntricos para acrocêntrico na tribo Ectatommini	34
3.1.5. Direção dos rearranjos cromossômicos pelo método cariográfico.....	35
4. CONCLUSÕES GERAIS	37
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

RESUMO

BORGES, Davileide S., M.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2003.
Estudos citogenéticos de espécies da tribo Ectatommini (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). Orientadora: Silvia das G. Pompolo. Conselheiros: Jacques H. C. Delabie e Terezinha M. C. Della Lucia.

Com o objetivo de contribuir ao conhecimento da citogenética da tribo Ectatommini (Hymenoptera; Formicidae; Ponerinae) na Região Neotropical, foram analisados os cariótipos de formigas dos gêneros *Gnamptogenys*, *Heteroponera* e *Ectatomma*. As colônias foram coletadas nas reservas da Mata do Paraíso e da Mata da Biologia em Viçosa/MG, assim como em áreas experimentais da CEPLAC/CEPEC, em Ilhéus/BA. O uso de técnicas citogenéticas proporcionou a caracterização numérica e morfológica dos cromossomos dos cariótipos estudados. Estes variaram de $2n=24-68$: *Gnamptogenys striatula* $2n=34$ (24M+10A); *Gnamptogenys* sp., $n=23$ (9M+14A), $2n=46$ (18M+28A); *G. annulata* $2n=68$ (6M+62A); *Heteroponera dolo* $2n=24$ (22M+2A); *Ectatomma tuberculatum* $2n=36$ (30M+6A); *E. brunneum* $2n=44$ (22M+22A) e *E. edentatum* $2n=46$. Não foram observadas diferenças entre os cariótipos de duas populações distintas de *Gnamptogenys striatula* (Viçosa/MG e Ilhéus/BA), mostrando a grande estabilidade cariotípica desta espécie. Uma análise de variância das fórmulas cariotípicas de nove espécies da tribo Ectatommini (incluindo informações sobre duas espécies disponíveis na

literatura) demonstrou que a razão de cromossomos metacêntricos (M) para acrocêntricos (A) diminuiu proporcionalmente ao aumento do número de cromossomos (n), sugerindo, portanto, rearranjos do tipo fissão. O método cariográfico demonstrou uma relação entre número cromossômico (n) e o número de braços (AN) levando a hipotetizar que rearranjos do tipo fissão e inversão foram as principais responsáveis pela diferenciação dos cariótipos na tribo Ectatommini, corroborando a Teoria da Interação Mínima. Entretanto, os dados ainda são escassos, necessitando o estudo de um maior número de espécies e a adaptação de técnicas de bandamentos cromossômicos para elucidar os mecanismos de evolução dos cromossomos nessa tribo.

ABSTRACT

BORGES, Davileide S., M.S. Universidade Federal de Viçosa, March 2003.
Cytogenetic studies on species of the tribe Ectatommini (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). Advisor: Silvia das G. Pompolo.
Committee members: Jacques H. C. Delabie and Terezinha M. C. Della Lucia.

Aiming to contribute to the knowledge of the tribe Ectatommini cytogenetics (Hymenoptera; Formicidae; Ponerinae) in Neotropical Region, the karyotypes of ants of the *Gnamptogenys*, *Heteroponera* and *Ectatomma* genera were analysed. Colonies were collected in the reserves of Mata do Paraíso and Mata da Biologia, at Viçosa/MG; and in CEPLAC/CEPEC experimental areas, at Ilhéus/BA, Brazil. The use of cytogenetic techniques allowed characterising the karyotypes chromosome numbers and morphology. These varied from $2n=24-68$: *Gnamptogenys striatula* $2n=34$ (24M + 10A); *Gnamptogenys* sp., $n=23$ (9M + 14A), $2n=46$ (18M + 28A); *G. annulata* $2n=68$ (6M + 62A); *Heteroponera dolo* $2n=24$ (22M + 2A); *Ectatomma tuberculatum* $2n=36$ (30M + 6A), *E. brunneum* $2n=44$ (22M + 22A) and *E. edentatum* $2n=46$. No difference was observed between the karyotypes of two distinct populations of *Gnamptogenys striatula* (Viçosa/MG and Ilhéus/BA), showing the great karyotypical stability of this species. A variance analyse of the karyotype formula of nine species of the Ectatommini tribe (including information on more two species available from literature) showed that, the ratio of metacentrics (M)

to acrocentrics (A) chromosomes decreased proportionally to the increase of chromosome number (n) suggesting thus fission rearrangements. The kariograph method showed that exists a relation between chromosome (n) and arm numbers (AN), making possible to formulate the hypothesis that fission and inversion rearrangements are the main responsible of karyotype differentiation in the tribe Ectatommini, according the Minimum Interaction Theory. However, data are still scarce and make necessary the study of a larger number of species as well as adaptation of chromosome-banding techniques in the aim to elucidate the mechanisms of chromosome evolution in the tribe.

1. INTRODUÇÃO

1.1. As Ectatommini e sua importância em estudos biológicos

As formigas (Hymenoptera: Formicidae) estão entre os grupos de animais que possuem a maior biomassa da Terra (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990). Há um grande número de espécies e, conseqüentemente, dificuldades taxonômicas na descrição e reconhecimento delas. Sua biomassa e onipresença fazem com que desempenhem papel importante nos ecossistemas terrestres (CAETANO et al., 2002).

Estão descritas até o momento, cerca de 11.600 espécies e subespécies de Formicidae, excluindo as fósseis, entre as 22.000 espécies estimadas na família Formicidae (AGOSTI, comunicação pessoal). São reconhecidas atualmente 16 subfamílias, sendo oito registradas para Região Neotropical (BOLTON, 1994).

A tribo Ectatommini está incluída dentro da subfamília Ponerinae, sendo encontrada em todas as regiões zoogeográficas (BROWN, 1973). Esta subfamília compreende 46 gêneros, agrupados em seis tribos (BOLTON,

1995). Segundo AGOSTI (comunicação pessoal), existe atualmente uma proposta de Bolton de subdividir os atuais Ponerinae em pelo menos cinco novas subfamílias atingindo a tribo Ectatommini o status de subfamília. No entanto, a classificação tradicional será preservada aqui. Dos 46 gêneros, 24 são encontrados na Região Neotropical e nove são endêmicos (BOLTON, 1994). As espécies são geralmente predadoras e apresentam grande variação nas estratégias de comportamento reprodutivo (PEETERS,1991). Em geral, possuem sociedades pequenas, de 1 a 300 operárias (PEETERS, 1991; JAHYNY et al., 2002), o que facilita a sua manutenção em laboratório (PEETERS,1991).

Esta subfamília é considerada primitiva entre os Formicidae, tanto do ponto de vista morfológico, quanto comportamental (DEJEAN et al., 1990).

Os representantes da tribo Ectatommini são relativamente abundantes na Região Neotropical e predominantemente predadores (FOWLER et al., 1991). Esta tribo é uma das mais importantes da subfamília nos trópicos, junto com a dos Ponerini e representa uma linha evolutiva antiga (FERNÁNDEZ, 1993).

Segundo BOLTON (1995), a tribo inclui os gêneros *Acanthoponera* e *Ectatomma*, com distribuição exclusivamente Neotropical; *Gnamptogenys*, com distribuições nas Regiões Australiana, Neártica, Neotropical e Oriental; *Heteroponera*, com distribuições nas Regiões Australiana e Neotropical e *Rhytidoponera*, que se distribui nas Regiões Australiana e Oriental.

O gênero *Gnamptogenys* distribui-se em toda a Região Neotropical, na IndoMalásia, partes do Neártico e Austrália (BROWN, 1958). Possui 73 espécies descritas somente na Região Neotropical, sendo portador de

numerosos caracteres morfológicos primitivos (LATTKE, 1994). Nidifica em solo, cupinzeiros abandonados ou não, madeira podre e ocasionalmente em epífitas e seus ninhos têm de 50 a 100 operárias (FERNÁNDEZ, 1993). As colônias de algumas espécies deste gênero podem abrigar várias fêmeas reprodutoras (BLATRIX & JAISSON, 2000).

O gênero *Heteroponera* possui quatro espécies representantes na Austrália e Nova Zelândia, enquanto na Região Neotropical são descritas 11 espécies. Existe pouca informação sobre a distribuição das mesmas, exceto no Sul e Sudeste do Brasil (KEMPF, 1972). Em Viçosa, no Estado de Minas Gerais, coletas recentes evidenciaram que estas formigas não são tão raras quanto se presumia, pelo menos em determinadas localidades (DELABIE, comunicação pessoal). A maioria dessas formigas nidifica de preferência em madeira em decomposição, passando a vida principalmente na cobertura do solo de matas relativamente úmidas.

Ectatomma é o gênero da tribo Ectatommini mais comum, com 14 espécies endêmicas da Região Neotropical (KUGLER & BROWN, 1982; ALMEIDA FILHO, 1987). Este gênero apresenta espécies que possuem larga distribuição geográfica e nidificam no solo de diferentes ambientes, incluindo áreas urbanas (FERNÁNDEZ, 1991).

1.2. Citogenética

A citogenética constitui uma ferramenta adicional aos estudos dos mecanismos envolvidos nos processos evolutivos das espécies. Sua aplicação é extremamente importante para estudos de filogenia, taxonomia, mecanismos

de especiação e da variabilidade genética (GOMES, 1995). Os parâmetros utilizados nos estudos citogenéticos são número, morfologia e estruturas cromossômicas.

Dados citogenéticos relativos a roedores (GREENBAUM et al., 1978), moluscos (PASCOE et al., 1996) e morcegos (BAKER et al., 1985) confirmam a importância da citotaxonomia como ferramenta para subsidiar estudos relacionados à biologia de diversos grupos de animais.

A ordem Hymenoptera ocupa um lugar de destaque na citogenética animal em razão do grande número de espécies analisadas cariotipicamente e da presença dos mais diversos tipos de rearranjos cromossômicos encontrados em níveis inter e intra-específicos, além das variações populacionais (GOMES, 1995). Estudos citogenéticos foram realizados em diversos gêneros de abelhas e vespas (KERR, 1948; KERR, 1952, 1969, 1972; KERR e SILVEIRA, 1972; HOSHIBA, 1988; COSTA et al., 1992; HOSHIBA & IMAI, 1993; POMPOLO e CAMPOS, 1995; MOREIRA, 1997; MENEZES, 1997; BRITO et al., 1997; BRITO, 1998; ROCHA e POMPOLO, 1998; CAIXEIRO, 1999; BRITO-RIBON et al., 1999; ROCHA et al., 2002; ROCHA, 2002; MAMPUMBU, 2002; SCHER, 1996; ARAÚJO et al., 2000).

Na família Formicidae, já foram analisados os cariótipos de mais de 500 espécies (IMAI et al. 1988a, 1994). Os resultados indicam que grande número dessas espécies apresentam variações numéricas e estruturais nos seus cromossomos, sendo esta família, a mais representada em estudos citogenéticos entre os himenópteros. Apresenta ampla variação no número haplóide de cromossomos conhecidos [(n=1 em *Myrmecia croslandi* Taylor

CROSLAND e CROZIER, 1986; IMAI e TAYLOR, 1989 a n=47 em *Prionomyrmex* (= *Nothomyrmecia*) *macrops* Clark (IMAI et al., 1990)].

Dos estudos citogenéticos com formigas no Brasil, há informações sobre espécies da tribo Attini (FADINI & POMPOLO, 1996; SANTOS-COLARES et al. 1997), quatro espécies de Ponerinae do gênero *Pachycondyla* (MARIANO et al., 1999, 2001a) e sete espécies de Formicinae do gênero *Camponotus* (MARIANO et al., 2001b). Existem, portanto, poucos estudos citogenéticos acerca dos grupos de formigas neotropicais, incluindo os de GOÑI et al. (1983), em 13 espécies de formigas do Uruguai.

Dentre os resultados obtidos com estudos citogenéticos que atestam a importância desta área em estudos taxonômicos e evolutivos, destacam-se os trabalhos de CROZIER, (1968, 1969, 1970a); IMAI et al., (1977, 1994) e MARIANO et al. (2001a). Isto pode ser observado em particular nos resultados do estudo de *Myrmecia pilosula*, na verdade um complexo de pelo menos cinco espécies pouco distintas morfológicamente, espécies irmãs, com distribuição alopátrica, mas muito diferentes cariotipicamente (IMAI et al., 1994).

Na subfamília Ponerinae, foi estudada a citogenética de 70 espécies, sendo 22 da Malásia (IMAI et al., 1983), 19 da Indonésia (IMAI et al., 1985), três da Austrália (CROZIER, 1969), 16 da Índia (IMAI et al., 1984), duas do Japão (IMAI et al., 1988a; IMAI & KUBOTA, 1972) duas de Sarawak (TJAN et al., 1986) uma de Cingapura (GOÑI, et al., 1982) e quatro espécies do Brasil (MARIANO et al., 1999, 2001b) (ver Tabela 7).

São poucos os estudos citogenéticos realizados sobre a tribo Ectatommini e nenhum dado existe sobre as espécies neotropicais. São conhecidos números cromossômicos de 3 espécies do complexo

Rhytidoponera metallica (n=12 a 21 e 2n=24 a 43) CROZIER, (1969); *Rhytidoponera* sp 1 (n=17) e *Rhytidoponera* sp 2 (n=19), *Rhytidoponera* sp 3 (n=21) (CROZIER, 1969). Também são conhecidos os números cromossômicos de quatro espécies do gênero *Gnamptogenys*, que são a *G. menadensis* (2n=42), *G. binghimi* (n=22), *Gnamptogenys* sp 2 (2n=36) e *Gnamptogenys* spp (2n=36,42), ambas do oeste da Malásia e Cingapura (GÖNI, et al., 1982, IMAI, 1983).

1.3. Rearranjos cromossômicos encontrados nos Formicidae

Os rearranjos cromossômicos, tais como as translocações, as inversões, as duplicações e as deleções, podem ocorrer em um único cromossomo ou em dois ou mais cromossomos do cariótipo ao mesmo tempo. Estes acontecimentos dependem da quebra dos cromossomos e sua reunião num ponto diferente do original.

Os rearranjos do tipo inversões são aqueles que envolvem duas quebras em um cromossomo, seguidas da reunião de maneira invertida do fragmento originado, alterando a seqüência gênica. No caso de as quebras ocorrerem no mesmo braço do cromossomo, sem envolver o centrômero, a inversão é paracêntrica e não muda a morfologia ou o número cromossômico. As quebras pericêntricas são aquelas que envolvem o centrômero do cromossomo, provocando mudanças na proporção dos braços cromossômicos. Este tipo de inversão pode ser detectado em divisão somática (WHITE, 1973).

As deleções e duplicações são eventos que estão relacionados com alterações cromossômicas estruturais.(WHITE, 1973).

Rearranjos, que aumentam ou diminuem o número de cromossomos pela fissão e fusão, são tipos especiais de translocações, em que os pontos quebrados ou unidos são próximos, respectivamente, dos centrômeros ou dos telômeros (WHITE, 1973). Nos Formicidae, estas alterações ocorrem num número significativo de espécies (IMAI et al., 1988a, b).

Em Formicidae, as espécies nas quais foram encontrados rearranjos como fusão e fissão cêntricas, pertencem aos gêneros *Rhytidoponera*, *Aphaenogaster*, *Myrmecia*, *Camponotus*, *Sphinctomyrmex*, *Vollenhovia*, *Tetramorium*, *Messor* e *Pheidole* (CROZIER, 1969; IMAI et al., 1984).

Há quatro possíveis tipos de inversões pericêntricas: AA, AM, MA, e MM. Nas inversões AA, um cromossomo acrocêntrico se muda para um outro acrocêntrico; nas inversões AM, um cromossomo acrocêntrico se muda para um metacêntrico; nas inversões MA, um cromossomo metacêntrico passa a ser um acrocêntrico e nas inversões MM, um metacêntrico se muda para outro metacêntrico (IMAI & MARUYAMA, 1978). Estas alterações podem ser encontradas em espécies dos gêneros *Myrmecia*, *Rythidoponera*, *Monomorium*, *Amblyopone* (IMAI et al., 1977) e em *Iridomyrmex gracilis* (CROZIER, 1968) e *Tapinoma sessile* (CROZIER, 1970b).

1.4. Teoria da Interação Mínima (TIM)

A Teoria da Interação Mínima foi proposta para explicar a evolução dos cromossomos em eucariotos, principalmente na ordem Hymenoptera, apoiada na hipótese da fissão cêntrica (IMAI et al. 1986; 1988a; 1994). Fundamentados em dados citogenéticos de mais de 500 espécies de formigas e outras famílias

da ordem Hymenoptera, além de vegetais, peixes, anfíbios e mamíferos, IMAI (1991); IMAI et al. (1986, 1988a, 1994, 2001) desenvolveram esta teoria, que discute o processo das variações cromossômicas e evidencia a participação dos rearranjos na evolução dos cariótipos.

A TIM postula que os cromossomos tendem a diminuir seu tamanho e conseqüentemente, aumentar seu número por meio de fissões, impedindo assim que ocorram interações físicas entre eles, uma vez que isto leva à diminuição de mutações como as translocações recíprocas, consideradas deletérias para os organismos eucariotos. A TIM prevê também que outros rearranjos podem acontecer tais como as fusões e as inversões pericêntricas do tipo AM que explicam a ocorrência de cromossomos do tipo M em cariótipos com $n > 12$ (IMAI & MARUYAMA, 1978; IMAI et al 2001).

1.5. Método Cariográfico

O método cariográfico consiste em representar graficamente os cariótipos das espécies, tentando interpretar quais tipos de rearranjos podem ter ocorrido na evolução do cariótipo (IMAI et al., 1994; HIRAI et al., 1996; IMAI et al., 2001).

Este método foi desenvolvido inicialmente com cariótipos de mamíferos (IMAI & CROZIER, 1980) e aplicado posteriormente a outros eucariotos, como em formigas do complexo *Myrmecia* (IMAI et al., 1994). Fundamentados em informações sobre o número de cromossomos haplóides e diplóides ($2n$, n) e de braços cromossômicos ($2AN$, AN), os cariótipos são analisados por meio do método cariográfico. Alterações em cromossomos podem ou não levar a

mudanças nos número de braços ou de cromossomos, de acordo com o rearranjo sofrido. O número de cromossomos aumenta se houver rearranjo do tipo fissão, diminui se houver fusão ou permanece inalterado, se ocorrerem inversões pericêntricas. O número de braços é alterado, se houver inversões pericêntricas (IMAI et al.,1994).

O método cariográfico nem sempre é útil para a reconstrução da filogenia cariotípica de uma espécie, mas a distribuição dos pontos no cariógrafo informa a direção seguida pela evolução dos cromossomos no grupo de espécies consideradas (IMAI et al., 1994).

Estudos citogenéticos realizados no gênero *Myrmecia*, no qual os resultados foram submetidos ao método cariográfico, sugerem que os rearranjos que ocorreram no curso da evolução do cariótipo tiveram distribuição vertical, com cariótipos $2n=10-32$ e $2n=38-76$, indicando predominância de rearranjos como fissões e fusões cêntricas (HIRAI et al., 1996). Outros resultados, onde este método foi aplicado, são encontradas nos estudos da evolução de cromossomos em mamíferos, outras espécies de formigas e vespas fundamentadas na TIM. Os resultados desta integração de diferentes espécies, tendo diferentes cariótipos, sugerem que o aumento no número de cromossomos foi por fissão cêntrica (IMAI et al., 2001).

1.6. Objetivos

Há uma grande diversidade de espécies de formigas e poucos estudos citogenéticos foram realizados, principalmente na Região Neotropical. Os resultados obtidos com algumas espécies estudadas nesta região, inclusive no

Brasil, mostraram que há variação cariotípica em função da distribuição geográfica, levando a hipotetizar a existência de vários grupos de espécies de formigas.

Poucos são os estudos citogenéticos realizados na tribo Ectatommini e nenhum na Região Neotropical. Isto mostra a importância dos estudos nesta tribo, já que em gêneros como *Heteroponera* e *Ectatomma*, a citogenética não tinha ainda sido estudada. Os objetivos do presente trabalho foram:

- caracterizar os cariótipos de algumas espécies de diferentes gêneros de Ectatommini e inferir sobre as possíveis variações numéricas e morfológicas;

- avaliar a citogenética como ferramenta para a taxonomia no estudo dos Ectatommini neotropicais;

- verificar a possível estabilidade no cariótipo destas espécies;

- deduzir sobre a tendência de rearranjos cromossômicos ocorridos no curso da evolução nesses cariótipos, para uma possível comparação entre o grupo de espécies da tribo em questão.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Locais de coletas

Algumas coletas foram realizadas em Viçosa/MG e Ilhéus/BA. Em Viçosa, elas foram realizadas na Mata do Paraíso (20°45' S e 45°52' W), área de Reserva Natural da Universidade Federal de Viçosa, com cerca de 194 hectares, situada no Município de Viçosa/MG, com altitude média de 650 m. A vegetação é de Mata Atlântica secundária do subtipo Floresta Subcaducifólia Tropical (ALONSO, 1977).

Outras coletas foram realizadas na Mata da Biologia (20°45' S e 42°50' W), área de Reserva Natural da Universidade Federal de Viçosa/MG, que é um fragmento de mata secundária, que hoje oferece uma estrutura do tipo mosaico, de diferentes formações arbóreas, com cerca de 300 hectares (SEVILHA et al., 2001).

Em Ilhéus, foram realizadas coletas em campos experimentais do CEPEC/CEPLAC/Ilhéus/BA (14° 15' S 39° 13' W), em cacauais incluídos no bioma Mata Atlântica, na região Noroeste.

2.2. Gêneros e espécies coletados

As coletas foram realizadas no período de agosto de 2001 a novembro de 2002. Foram coletadas espécies dos gêneros: *Gnamptogenys*, *Heteroponera* e *Ectatomma*.

2.2.1. *Gnamptogenys*

Foram coletadas 33 colônias, sendo 29 provenientes da Mata do Paraíso e as 4 restantes, de áreas experimentais do CEPEC/CEPLAC/Ilhéus/BA. As espécies identificadas foram as seguintes: *Gnamptogenys striatula* Mayr, *Gnamptogenys sp. nv.*, *Gnamptogenys annulata* Mayr e *Gnamptogenys mediatrix* Brown.

As colônias foram transportadas para o laboratório de Citogenética de Insetos, abrigadas em ninhos artificiais de gesso com 20 cm de diâmetro, mantidas em câmara de incubação (B. O. D. Mol: 347 CD) a 26°C, para possível observação no desenvolvimento das larvas em fase pós-defecante, período que antecede imediatamente ao estágio de pupa. As colônias foram alimentadas com larvas de *Tenebrio* (Coleoptera:Tenebrionidae) e mel de abelhas. Estas observações foram necessárias devido à quantidade de material disponível em coleta de campo não ter sido suficiente para o estudo em questão. Apesar de o número de colônias coletadas ter sido considerado bom, muitas vezes o material adequado para citogenética não foi suficiente. As tentativas de criar ninhos artificiais em laboratório não tiveram êxito devido à

contaminação por ácaros na câmara de incubação, levando à perda de material.

2.2.2. *Heteroponera*

As colônias do gênero *Heteroponera* foram coletadas na Mata Paraíso/MG e Mata da Biologia/MG, somando um total de sete colônias, identificadas como *Heteroponera dolo* (Roger). A disponibilidade de material coletado foi pequena, não tendo sido suficiente para a realização de um maior número de testes para adaptação de diferentes técnicas citogenéticas. Os ninhos coletados no campo foram trazidos para o laboratório e mantidos em câmara de incubação, seguindo-se os mesmos cuidados descritos para o gênero *Gnamptogenys*, citados anteriormente. Foram acrescentados na dieta desta espécie, maçã e mel.

Os ninhos acondicionados em câmara de incubação não tiveram sucesso, principalmente por dificuldades na dieta destas formigas e sua adaptação aos ninhos artificiais. Esta dificuldade na manutenção de ninhos em laboratório se deve principalmente ao pouco conhecimento da biologia deste gênero.

2.2.3. *Ectatomma*

Foram coletadas 10 colônias de espécies deste gênero em áreas experimentais do CEPEC/CEPLAC/Ilhéus/BA e uma na Mata da Biologia/MG,

somando um total de 11 colônias, assim distribuídas: quatro colônias de *Ectatomma tuberculatum* Olivier, cinco colônias de *Ectatomma brunneum* Fr. Smith, uma colônia de *Ectatomma permagnum* Forel e uma de *Ectatomma edentatum* Roger. Esta última foi coletada na região de Viçosa. Algumas colônias foram trazidas de Ilhéus/BA e mantidas em câmara de incubação em ninhos artificiais, seguindo os mesmos passos utilizados para os dois gêneros citados anteriormente.

Os resultados das coletas dos ninhos das espécies estudadas no presente trabalho estão informados nas Tabelas 1 a 3.

Todo o material coletado foi identificado pelo Dr. Jacques H. C. Delabie e sua equipe do Laboratório de Mirmecologia do Centro de Pesquisas de Cacau, em Ilhéus/BA, onde se encontra a coleção de referência.

2.3. Técnica para obtenção de cromossomos metafásicos

A análise citogenética foi feita a partir de gânglios cerebrais de larvas pós-defecantes, segundo a metodologia proposta por IMAI et al. (1988a). O melhor estágio para preparação de cromossomos metafásicos é o de larvas pós-defecantes (IMAI, 1966).

A metodologia segundo IMAI et al. (1988a) é resumida a seguir:

- Sob um estereomicroscópio, as larvas pós-defecantes foram dissecadas em solução de colchicina-hipotônica 0,005% (0,5 ml de solução de colchicina a 0,1 % diluída em 9,5 ml de solução de citrato de sódio a 1%).

Tabela 1 - Número das colônias, local da coleta, data da coleta e caracterização de ninhos de espécies do gênero *Gnamptogenys*.

Nº da Colônia	Espécie	Local de coleta	Data de coleta	Nidificação
2	<i>Gnamptogenys</i> sp. nv	Mata Paraíso/Viçosa/MG	26/03/02	Tronco em decomposição
4	<i>Gnamptogenys</i> sp. nv	Mata Paraíso/Viçosa/MG	26/03/02	Tronco em decomposição
6	<i>G. striatula</i>	Mata Biologia/Viçosa/MG	29/03/02	Madeira em decomposição
8	<i>G. striatula</i>	Mata Biologia/Viçosa/MG	29/03/02	Madeira em decomposição
10	<i>G. mediatrix</i>	Mata Paraíso/Viçosa/MG	02/04/03	Tronco em decomposição
13	<i>G. striatula</i>	Mata Paraíso/Viçosa/MG	02/04/03	Pedaços de madeira em decomposição
23	<i>G. striatula</i>	Mata Paraíso/Viçosa/MG	02/04/03	Tronco seco
32	<i>G. striatula</i>	Mata Paraíso/Viçosa/MG	02/04/03	Tronco em decomposição
36	<i>G. striatula</i>	Mata Paraíso/Viçosa/MG	02/04/03	Tronco em decomposição
45	<i>G. striatula</i>	Mata Biologia/Viçosa/MG	09/04/03	Madeira em decomposição
48	<i>G. striatula</i>	Mata Biologia/Viçosa/MG	09/04/03	Tronco em decomposição
49	<i>G. striatula</i>	Mata Biologia/Viçosa/MG	09/04/03	Tronco em decomposição
51	<i>G. striatula</i>	Mata Biologia/Viçosa/MG	09/04/03	Tronco em decomposição
63	<i>G. striatula</i>	CEPLAC/CEPEC/Ilhéus/BA	01/08/02	Raiz de cacau
61	<i>G. striatula</i>	CEPLAC/CEPEC/Ilhéus/BA	01/08/02	Raiz de cacau
60	<i>G. annulata</i>	CEPLAC/CEPEC/Ilhéus/BA	25/07/02	Tronco em decomposição

Tabela 2 - Coletas realizadas na Mata do Paraíso/Viçosa/MG, data de coleta e caracterização de ninhos de *Heteroponera dolo*.

Nº da Colônia	Data de coleta	Nidificação
10	01/09/01	Tronco seco
11	01/09/01	Tronco seco
12	01/09/01	Tronco seco
13	26/06/02	Tronco seco
14	26/06/02	Tronco seco
15	01/07/02	Tronco seco
21	23/10/02	Madeira em decomposição
22	26/10/02	Tronco seco
23	21/10/02	Pedaços de cipós

Tabela 3 - Número das colônias, locais de coletas de ninhos coletados em solo, data de coletas de espécies do gênero *Ectatomma*.

Nº da Colônia	Espécie	Data de coleta	Local de coleta
1	<i>E. tuberculatum</i>	05/08/02	CEPLAC/CEPEC/Ilhéus/BA
3	<i>E. tuberculatum</i>	05/08/02	CEPLAC/CEPEC/Ilhéus/BA
8	<i>E. tuberculatum</i>	30/07/02	CEPLAC/CEPEC/Ilhéus/BA
1	<i>E. brunneum</i>	08/08/02	CEPLAC/CEPEC/Ilhéus/BA
10	<i>E. brunneum</i>	08/08/02	CEPLAC/CEPEC/Ilhéus/BA
12	<i>E. brunneum</i>	15/08/02	CEPLAC/CEPEC/Ilhéus/BA
1	<i>E. permagnum</i>	26/08/02	CEPLAC/CEPEC/Ilhéus/BA
1	<i>E. edentatum</i>	31/01/03	Mata Biologia/Viçosa/MG

- Os gânglios cerebrais foram transferidos para recipientes escavados contendo uma nova solução de colchicina-hipotônica, onde foram mantidos, por pelo menos duas horas, a fim de se obter maior número de células metafásicas.

- Após este período, os gânglios foram transferidos com o auxílio de uma pipeta Pasteur, para uma lâmina devidamente limpa e seca. Em seguida, por meio da inclinação desta, a solução colchicina-hipotônica foi totalmente drenada. Mantendo-se a lâmina nesta mesma posição, foram pingadas diversas gotas do fixador 1 (etanol: ácido acético: água destilada:3:3:4).

- Depois de drenado o fixador 1, a lâmina foi levada ao estereomicroscópio e adicionando-se duas gotas deste mesmo fixador, procedeu-se à dissociação do órgão com o auxílio de estiletes.

- Antes de ocorrer a retração do tecido, foram adicionadas duas gotas de fixador 2 (etanol: ácido acético:1:1). Isto fez com que o fixador 1 se movesse para as margens da lâmina, onde foi removido com papel filtro. Tendo o fixador 2 coberto toda a superfície da lâmina, foram adicionadas duas gotas de fixador 3 (ácido acético 100%) e o excesso de fixador 2 foi retirado com papel filtro. As lâminas foram mantidas à temperatura ambiente para secagem .

- Após 24 horas de preparação, as lâminas foram coloridas com Giemsa, em tampão Sörensen (pH 6,8; 0,06M), na proporção de 1:30, durante 25 a 30 minutos, em temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram lavadas em água corrente, a fim de retirar o excesso de corante.

Durante as preparações das lâminas dos gêneros *Gnamptogenys* e *Heteroponera*, observou-se que o tempo na solução colchicina-hipotônica e a fase larval pós-defecante não seguiram o mesmo padrão para todas as

espécies, segundo a metodologia proposta por IMAI et al., (1988a), para obtenção de cromossomos metafásicos. Com isto, foram feitos ajustes de tempo e, conseqüentemente, houve perda de material. O tempo ideal na solução hipotônica colchicina-citrato para a espécie de *Gnamptogenys striatula* foi de 30 minutos, sendo esse também o tempo para larva pós-defecante. Para outras espécies deste gênero, tanto o tempo na solução hipotônica, quanto a fase larval apresentaram variações. Com o gênero *Heteroponera*, a variação na solução hipotônica colchicina-citrato foi de duas horas e meia a três horas e na fase de pupa, com formação de antenas, obtiveram-se cromossomos metafásicos mais adequados para análises.

2.4. Análise dos cromossomos

Em média foram analisadas 10 lâminas para cada espécie estudada ou de acordo com disponibilidade de material. As lâminas coradas foram analisadas com o auxílio de um microscópio Olympus BX-50. As metáfases foram fotografadas com microscópio Olympus BX-60, acoplado a um sistema de fotografia, com objetiva de imersão de 100x e filtro verde. O filme utilizado foi o AGFA, asa 25.

A representação cariotípica foi feita de acordo com a nomenclatura proposta por IMAI (1991). Para a montagem dos cariótipos, os cromossomos foram reunidos em dois grupos. Grupo M, de cromossomos metacêntricos (M), cuja heterocromatina se localizava nas regiões pericentroméricas e grupo A, de cromossomos acrocêntricos (A), cuja heterocromatina se localizava em toda a

extensão do braço curto dos cromossomos. Neste grupo, encontram-se os pseudo-acrocêntricos (A^M) com braço longo heterocromático (Figura 1).

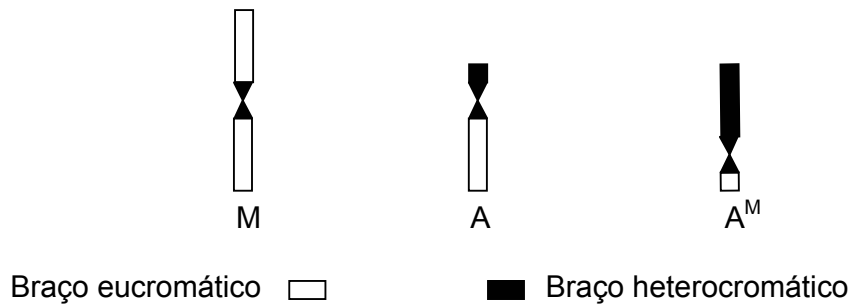


Figura 1 - Tipos morfológicos de cromossomos encontrados nas análises citogenéticas para tribo Ectatommini, M= metacêntrico, A= acrocêntrico e A^M = pseudoacrocêntrico.

Uma tentativa de análise da evolução dos cromossomos da tribo Ectatommini foi realizada, colocando em comum, as informações sobre a natureza dos pares cromossômicos (A e M). Utilizou-se a análise de variância para todas as espécies estudadas, assim como para a *Rhytidoponera* spp. disponíveis no estudo de CROZIER (1969). A variação relativa do número de cromossomos A foi comparada graficamente com a de cromossomos M e sua significância testada por meio da análise de variância.

Para entender a direção dos rearranjos cromossômicos, utilizou-se o Método Cariográfico (IMAI et al., 1994), em nove espécies da tribo

Ectatommini, seis do presente trabalho e três de *Rythidoponera* (CROZIER 1969).

Para obtenção dos dados para montagem do cariógrafo, utilizou-se a morfologia dos cromossomos analisados, aplicando-se a fórmula $AN = A + 2M$ para cariótipo haplóide. O AN é o número haplóide de cromossomos, o A, o número de cromossomos acrocêntricos, o 2 é uma constante e o M, o número de cromossomos metacêntricos.

O esquema do método cariográfico se encontra na Figura 2.

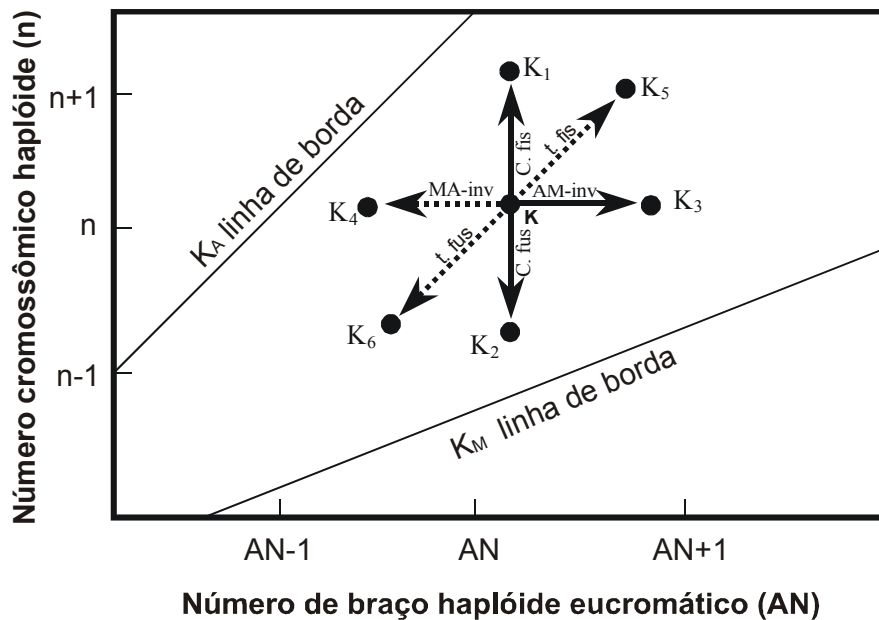


Figura 2 - Representação cariográfica de um cariótipo, (K= cariótipo haplóide; MA-inv. = inversões MA; AM-inv. = inversões AM; C. fus = ciclo de fusão; C. fis. = ciclo de fissão; t. fus. = fusão *em tandem*; t. fis. = fissões *em tandem*) e seu movimento no cariográfico, com as diferentes variações cromossômicas. As setas inteiras são as maiores variações (adaptado de IMAI et al., 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os caracteres observados com a coloração convencional (Giemsa) foram o número, a morfologia dos cromossomos e a distribuição da heterocromatina.

Os dados do presente trabalho são uma contribuição para o melhor entendimento da biologia dos Ectatommini neotropicais.

Segundo IMAI et al. (1988a), a coloração convencional (Giemsa) produz padrão de banda C, podendo evidenciar regiões heterocromáticas, sem um tratamento posterior com reagentes utilizados na técnica de banda C.

Foram feitas tentativas de bandamentos cromossômicos, como Banda C (heterocromatina) e fluorocromos (DAPI/CMA₃), não tendo sido possível obter resultados, principalmente por carência de material, para adaptação das técnicas em questão.

Os resultados das análises citogenéticas encontram-se nas Tabelas 4 a 6.

Tabela 4 - Resultados das análises citogenéticas no gênero *Gnamptogenys*.

Nº da Colônia	Nº obs. Indivíduos	Espécie	2n(n)	Fórmula cariotípica (K)
2	15	<i>Gnamptogenys</i> sp nv	46(23)	9 M + 14 A
4	10	<i>Gnamptogenys</i> sp. nv	46(23)	9 M + 14 A
6	23	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
8	15	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
13	18	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
23	11	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
32	37	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
36	05	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
45	04	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
48	02	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
49	04	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
51	06	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
63	10	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
61	14	<i>G. striatula</i>	34	12 M + 5 A
60	36	<i>G. annulata</i>	68	3M + 31 A

Tabela 5 - Resultados das análises citogenéticas em *Heteroponera dolo* 2n=24, com fórmula cariotípica 2K=11M+ 1 A.

Nº da Colônia	Nº de indivíduos observados
10	1
11	8
14	3
21	12
22	9
23	3

Tabela 6- Resultados das análises citogenéticas no gênero *Ectatomma* .

Nº da Colônia	Nº obs. Indivíduos	Espécie	2n	Fórmula cariotípica (K)
1	12	<i>E. tuberculatum</i>	36	15M+3A
3	16	<i>E. tuberculatum</i>	36	15M+3A
8	13	<i>E. tuberculatum</i>	36	15M+3A
1	14	<i>E. brunneum</i>	44	11M+11A
10	5	<i>E. brunneum</i>	44	11M+11A
12	15	<i>E. brunneum</i>	44	11M+11A
1	7	<i>E. edentatum</i>	46	*

*Fórmula cariotípica não determinada.

3.1. Análises dos cariótipos pela coloração convencional com Giemsa

3.1.1. Gênero *Gnamptogenys*

O número cromossômico encontrado para *Gnamptogenys striatula* foi de $2n=34$, tanto nas colônias coletadas em Viçosa/MG, quanto naquelas coletadas em Ilhéus/BA. Pela técnica de coloração convencional com Giemsa, não foram encontradas diferenças na constituição dos cariótipos entre as colônias coletadas em Viçosa/MG e Ilhéus/BA. O cariótipo desta espécie é composto por 12 pares de cromossomos metacêntricos (M) e cinco pares de cromossomos acrocêntricos (A), com fórmula cariotípica $2K=12M + 5A$ (Figura 3a).

Em *Gnamptogenys* sp. nv, o número cromossômico encontrado em todas as observações foi de $2n= 46$ para fêmea (Figura 3b) e $n= 23$ para machos, composto de nove pares de cromossomos metacêntricos (M) e 14 pares de acrocêntricos (A) $2K=9M + 14A$. Para os machos encontram-se $K=9M + 14A$.

O número cromossômico encontrado nas análises de *Gnamptogenys annulata* foi $2n=68$ (Figura 3c), com três pares de cromossomos metacêntricos (M) e 31 pares de cromossomos acrocêntricos (A). No grupo dos A, foi observada a presença de cromossomos com um dos braços nitidamente heterocromáticos em oito pares, denominados A^M . Não houve variação nos cariótipos entre as colônias analisadas.

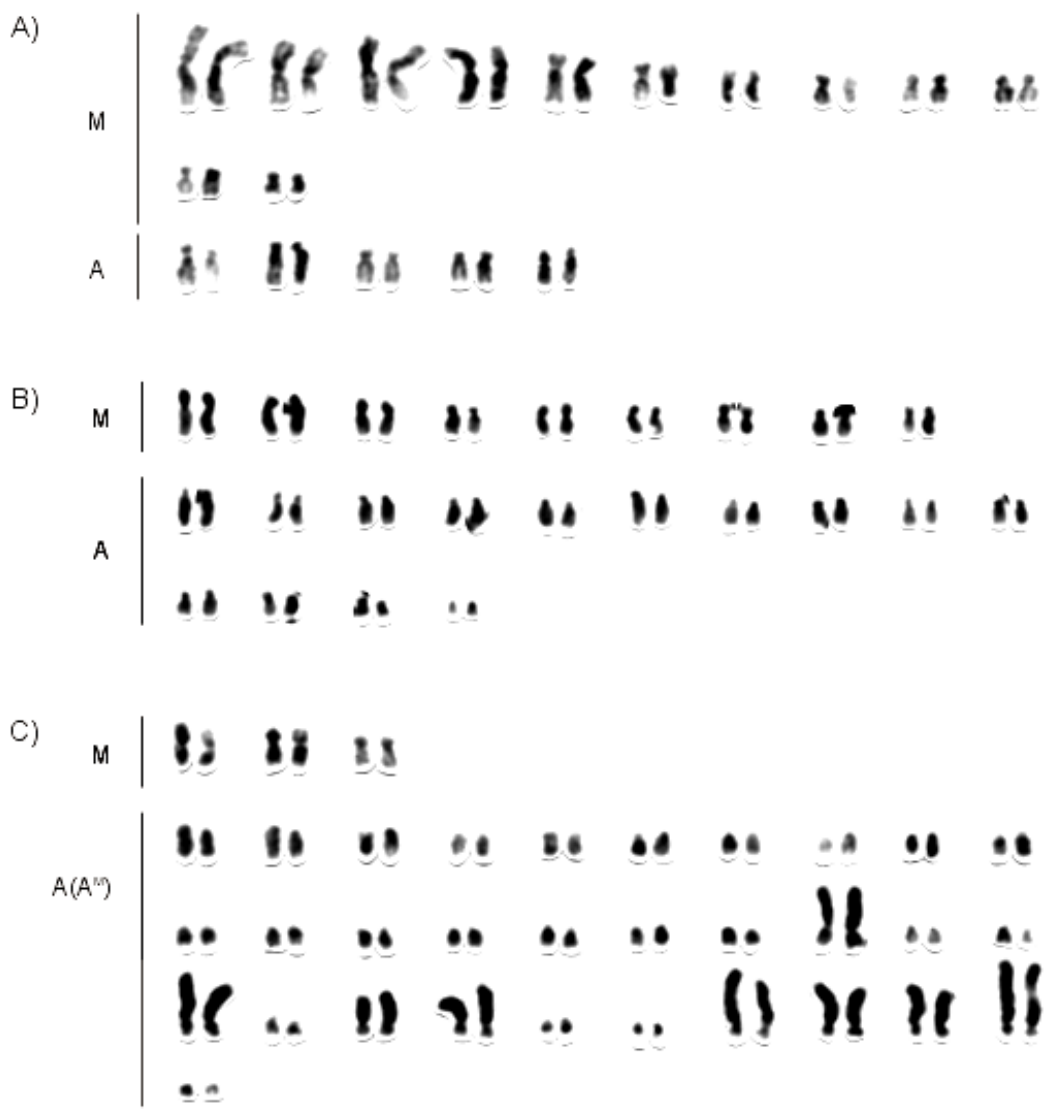


Figura 3 - Cariótipos diplóides de espécies do gênero *Gnampptogenys*. A) *Gnampptogenys striatula*, 2n=34; B) *Gnampptogenys* sp. nv., 2n=46; C) *Gnampptogenys annulata*, 2n=68. Barra na horizontal = 5μm.

Dados da literatura mostram a citogenética de três espécies do gênero *Gnamptogenys*, (*G. menadensis*, *Gnamptogenys* sp. 2, *G. bighami*) coletadas na Malásia e Cingapura. A variação no número cromossômico encontrado foi de $n=21$ a $n=22$ (Tabela 7), (IMAI et al., 1982, 1983). Entretanto, não foi possível fazer uma análise comparativa entre as três espécies encontradas na Malásia e Cingapura e as espécies estudadas no presente trabalho, pois não há dados sobre a morfologia dos cromossomos dessas espécies.

CROZIER (1969) descreveu o número e morfologia de cromossomos no complexo de espécies *Rhytidoponera metallica*, sendo os cariótipos de *Rhytidoponera* sp.1 com $2n=34$ ($2K=6M + 11A$), *Rhytidoponera* sp. 2 com $2n=38$ ($2K=4M + 15A$) e *Rhytidoponera* sp. 3 com $2n=42$ ($2K=2M + 19A$) .

3.1.2. Gênero *Heteroponera*

O número cromossômico encontrado para *Heteroponera dolo* foi de $2n= 24$ para fêmeas (Figura 4) e $n=12$ para machos, composto de 11 pares de cromossomos metacêntricos (M) e um par de cromossomos acrocêntricos (A) ($2K=22M + 2A$), para machos, ($K=11M + 1A$). Até o momento, *H. dolo* foi a espécie que apresentou o menor número de cromossomos dentro da tribo Ectatommini (Tabela 7). A constituição do seu cariótipo, $K=11M + 1A$, corrobora os dados de IMAI et al.(1988a), que sugerem que cariótipos com baixo número ($n\leq 12$) tendem a apresentar predominância de cromossomos com morfologia metacêntrica. Uma exceção encontrada foi a espécie *Camponotus taylori*. (Formicinae), com $2n=24$ cromossomos e $2K=24A$ (IMAI et al, 1984).

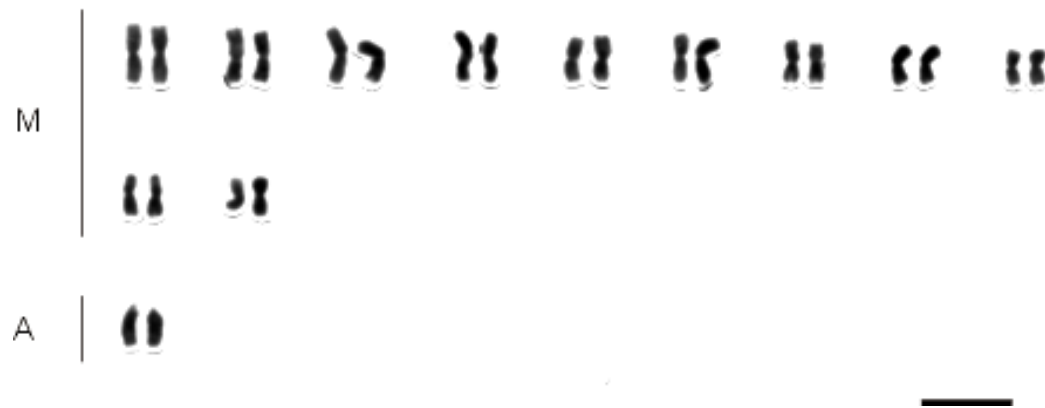


Figura 4 - Cariótipos diplóides da espécie *Heteroponera dolo*, $2n=24$. Barra na horizontal = $5\mu\text{m}$.

Tabela 7 - Variação no número de cromossomos encontrada na subfamília Ponerinae.

Espécies	2n (n)	Referências
Tribo Ectatommini		
<i>Gnamptogenys menadensis</i>	42	IMAI et al., 1983
<i>Gnamptogenys</i> sp 2	36	GÕNI et al., 1982
<i>G. binghami</i>	(22)	IMAI et al., 1983
<i>G. striatula</i>	34	Presente trabalho
<i>G. annulata</i>	68	Presente trabalho
<i>Gnamptogenys</i> sp. <i>nv.</i>	46	Presente trabalho
<i>Rythidoponera</i> sp 1	(17)	CROZIER, 1969
<i>Rythidoponera</i> sp 2	(19)	CROZIER, 1969
<i>Rythidoponera</i> sp 3	(21)	CROZIER, 1969
<i>Ectatomma tuberculatum</i>	36	Presente trabalho
<i>E. brunneum</i>	44	Presente trabalho
<i>E. edentatum</i>	46	Presente trabalho
<i>Heteroponera dolo</i>	24	Presente trabalho
Tribo Ponerini		
<i>Leptogenys peuqueti</i>	54	IMAI et al., 1985
<i>L. ocellifera</i>	46	IMAI et al., 1984
<i>L. minchini</i>	52	IMAI et al., 1984
<i>L. diminuta</i>	38	IMAI et al., 1983
<i>L. hysterica</i>	26	IMAI et al., 1984
<i>L. myops</i>	(24)	IMAI et al., 1983
<i>Leptogenys</i> sp	54	IMAI et al., 1986
<i>Leptogenys</i> sp.	48	IMAI et al., 1983

Tabela 7, Cont.

Espécies	2n (n)	Referências
Tribo Ponerini		
<i>L. kraepelini</i>	26	IMAI, et al., 1985
<i>L. iridescens</i>	46	IMAI et al., 1983
<i>L. borneensis</i>	46	IMAI et al., 1983
<i>Hipoponera confinis</i>	38	IMAI et al., 1985
<i>H. pruinosa</i>	24 (12)	IMAI et al., 1983, 1985
<i>Hipoponera</i> sp. 2	38	IMAI et al., 1983
<i>Hipoponera</i> sp. 3	36	IMAI et al., 1983
<i>Cryptopone testacea</i>	18 (9)	IMAI et al., 1983
<i>Odontomachus simillimus</i>	44 (22)	IMAI et al., 1983, 1985
<i>O. latidens</i>	32	IMAI, et al., 1985
<i>O. rixosus</i> = sp. 2	30 (15)	IMAI et al., 1983
<i>O. latidens</i>	(15)	IMAI et al., 1983
<i>Pachycondyla villosa</i>	34	MARIANO et al., 1999
<i>P. sp 'inversa'</i>	30	MARIANO et al., 1999
<i>P. apicalis</i>	36	MARIANO et al., 2001
<i>P. obscuricornis</i>	42, 60	MARIANO et al., 2001
<i>Pachycondyla n. sp.</i>	36 (18)	IMAI et al., 1983
<i>P. leeuwenhoekii</i>	16 (8)	IMAI et al., 1983
<i>P. rubra</i>	20	IMAI et al., 1986
<i>P. rubra</i>	38, 40	IMAI et al., 1983
<i>P. tridentada</i>	28	IMAI et al., 1983
<i>P. astuta</i>	18	IMAI, et al., 1985
<i>P. astuta</i>	22	IMAI, et al., 1985

Tabela 7, Cont.

Espécies	2n (n)	Referências
Tribo Ponerini		
<i>Pachycondyla</i> sp.	44	IMAI, et al., 1985
<i>P. rubra</i>	20 (10)	IMAI, et al., 1985
<i>Bothroponera</i> sp. 1 (<i>tesserinoda</i>)	48	IMAI, et al., 1984
<i>B. rufipes</i>	48	IMAI, et al., 1984
<i>Bothroponera</i> sp. 2 (<i>tesserinoda</i>)	52	IMAI, et al., 1984
<i>B. rubiginosa</i>	76	IMAI, et al., 1984
<i>Diacamma</i> sp.	58	IMAI et al., 1986
<i>Diacamma</i> sp. 2	30	IMAI et al., 1984
<i>Diacamma</i> sp. 1	66	IMAI, et al., 1985
<i>D. vagans</i>	(7)	IMAI et al., 1984
<i>Odontoponera transversa</i>	42	IMAI, et al., 1985
<i>O. transversa</i>	46	IMAI, et al., 1984
<i>Ponera japonica</i>	12	IMAI et al., 1983
<i>Ponera scabra</i>	7 (3,4)	IMAI et al., 1988
<i>Ponera scabra</i>	7 (4)	IMAI & KUBOTA, 1972
<i>Ponera</i> sp.	12	IMAI, et al., 1985
<i>Hypoponera pruinosa</i>	24	IMAI, et al., 1985
<i>H. confinis</i>	38	IMAI, et al., 1985
<i>Anochetus modicus</i>	30	IMAI, et al., 1985
<i>A. madaraszi</i>	28	IMAI et al., 1984
<i>Anochetus</i> sp. 4	30	IMAI et al., 1984
<i>Anochetus</i> sp. 5	34	IMAI et al., 1984
<i>A. yerburyi</i>	30	IMAI et al., 1984

Tabela 7, Cont.

Espécies	2n (n)	Referências
Tribo Ponerini		
<i>Anochetus</i> sp.	34 (17)	IMAI et al., 1986
<i>A. graeffei</i>	30	IMAI et al., 1984
<i>A. graeffei</i>	38	IMAI, et al., 1985
<i>Brachyponera luteipes</i> (= <i>obscurans</i>)	22	IMAI et al., 1984
<i>Ectomomyrmex</i> sp	38	IMAI et al., 1984
<i>Odontoponera transversa</i>	46	IMAI et al., 1984
Tribo Platythyreini		
<i>Platythyrea quadridenta</i>	18 (9)	IMAI et al., 1983
<i>P. tricuspidata</i>	94	IMAI et al., 1983

3.1.3. Gênero *Ectatomma*

Para a espécie *Ectatomma tuberculatum* (Olivier), o número cromossômico encontrado foi de $2n=36$ (Figura 5a). A análise do cariótipo mostra que é composto por 15 pares de cromossomos metacêntricos (M) e três pares de acrocêntricos (A) ($2K=15M + 3A$) (Tabela 6).

Em *Ectatomma brunneum* Fr. Smith, em todas as análises, o número cromossômico foi de $2n=44$ (Figura 5b). Foram observados 11 pares de cromossomos metacêntricos (M) e 11 pares de cromossomos acrocêntricos (A), ($2K=11M + 11A$).



Figura 5 - Cariótipos diplóides das espécies do gênero *Ectatomma*. A) *Ectatomma tuberculatum*, 2n=36; B) *Ectatomma brunneum*, 2n=44. Barra na horizontal = 5µm.

Já em *Ectatomma edendatum* Roger, os resultados obtidos não foram satisfatórios por causa da pequena quantidade de material disponível, por isso não foi feita a montagem do cariótipo, mas se pôde inferir que o número cromossômico foi de $2n=46$ em todas as lâminas analisadas. Ressalta-se ainda que devido à pequena disponibilidade de material, a morfologia do mesmo não foi apropriada para demonstração neste trabalho.

Os dados citogenéticos das seis espécies de formigas da tribo Ectatommini estudadas no presente trabalho mostraram que cada espécie apresenta um cariótipo característico, sugerindo que os dados citogenéticos têm valor para taxonomia do grupo.

Um levantamento feito na literatura da citogenética na subfamília Ponerinae e o presente trabalho revelam a variação no número de cromossomos em 70 espécies nas tribos Ectatommini, Ponerini e Platythyreini. A variação observada foi de $n=3$ para a espécie *Ponera scabra* (IMAI e KUBOTA, 1972; IMAI et al., 1998a), $n=47$ para *Platythyrea tricuspidata*, compartilhando o mesmo número cromossômico com *Prionomyrmex* (= *Nothomyrmecia*) *macrops*, (IMAI et al., 1990), espécie pertencente à subfamília Prionomyrmecinae. A tribo Ponerini foi a mais estudada do ponto de vista citogenético, visto que ocorre uma ampla distribuição geográfica de suas espécies. Variações em números cromossômicos de espécies como *Odontoponera transversa* $2n= 42-46$ (IMAI et al., 1984, 1985) de diferentes regiões (Indonésia e Índia), podem revelar a formação de outros grupos de espécies (Tabela 7).

Das 16 subfamílias de formigas descritas até momento, são conhecidas a citogenética de oito, com as seguintes variações: Ponerinae, $n=3-47$;

Myrmeciinae, n=1-47; Formicinae, n=8-27; Dolichoderinae, n=5-16; Myrmicinae, n=4-28; Dorylinae, n=15; Cerapachyinae, n= 14-25; Pseudomyrmicinae, n=8-22 (CROZIER, 1969; IMAI, 1966, IMAI & KUBOTA, 1972, IMAI et al.,1977, 1982, 1983,1984, 1985, 1986,1988a,b, 1990, 1994). As subfamílias Ponerinae e Myrmeciinae são consideradas mais derivadas do ponto de vista morfológico. Segundo IMAI et al (1977), parece não existir uma correlação entre a evolução morfológica e a cariotípica. Os cariótipos das subfamílias conhecidas até o momento podem ter seguido uma evolução cariotípica paralela, porém independente.

3.1.4. Relação de cromossomos metacêntricos para acrocêntricos na tribo Ectatommini

O gráfico da Figura 6 representa a variação do número de cromossomos M em função do número de cromossomos A, em nove espécies da tribo Ectatommini sendo seis do presente trabalho e três do gênero *Rhytidoponera*. A regressão foi altamente significativa entre as duas variáveis. O número de cromossomos do tipo A variou em função de M. À medida que diminuiu o número de cromossomos M ($p= 0,008928$ e $F= 12.845$), aumentou, conseqüentemente, o número de cromossomos A. Os tipos de rearranjos cromossômicos que podem ter ocorrido na diferenciação dos cariótipos das espécies foram às fissões .

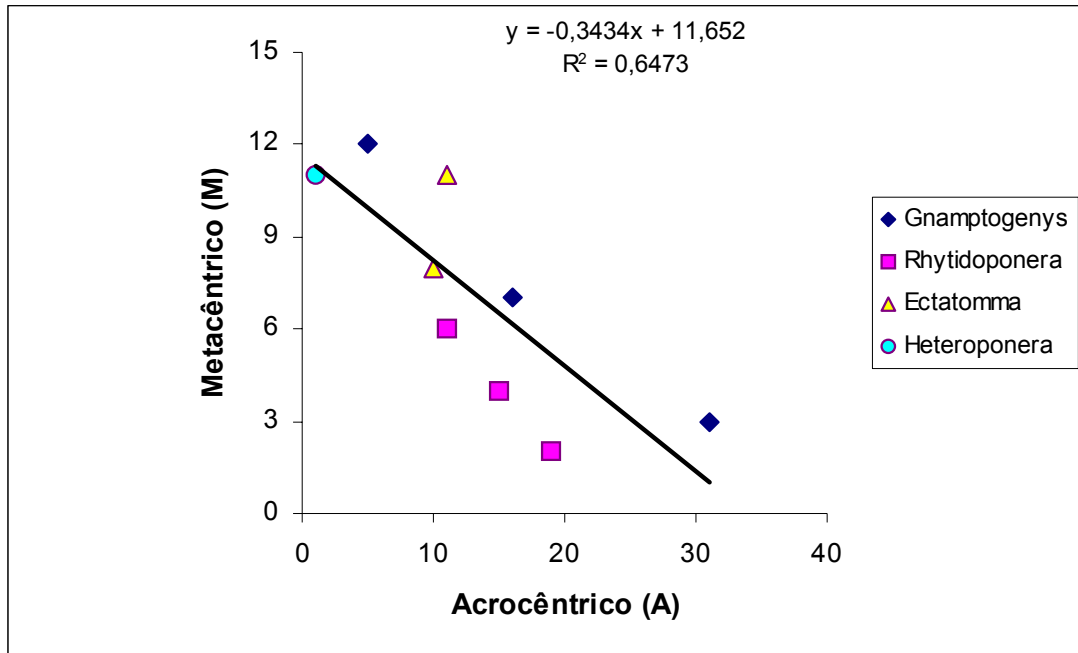


Figura 6 - Comparações entre o grupo de espécies da tribo Ectatommini pela ANOVA confrontando a variação de M em relação à de A.

3.1.5. Direção dos rearranjos cromossômicos pelo método kariográfico

Os dados citogenéticos obtidos da tribo Ectatommini foram submetidos ao método kariográfico desenvolvido por IMAI e CROZIER (1980) e aperfeiçoado por IMAI et al. (1994, 2001), para verificar a direção dos rearranjos cromossômicos envolvidos na evolução dos kariótipos.

Os pontos no kariógrafo estão espalhados e não entram em contato com as linhas de borda, mas tendem a seguir uma direção. Um aumento do número de cromossomos e de braços cromossômicos (Figura 7) pode inferir mais uma vez que os kariótipos dos gêneros em questão sofreram rearranjos

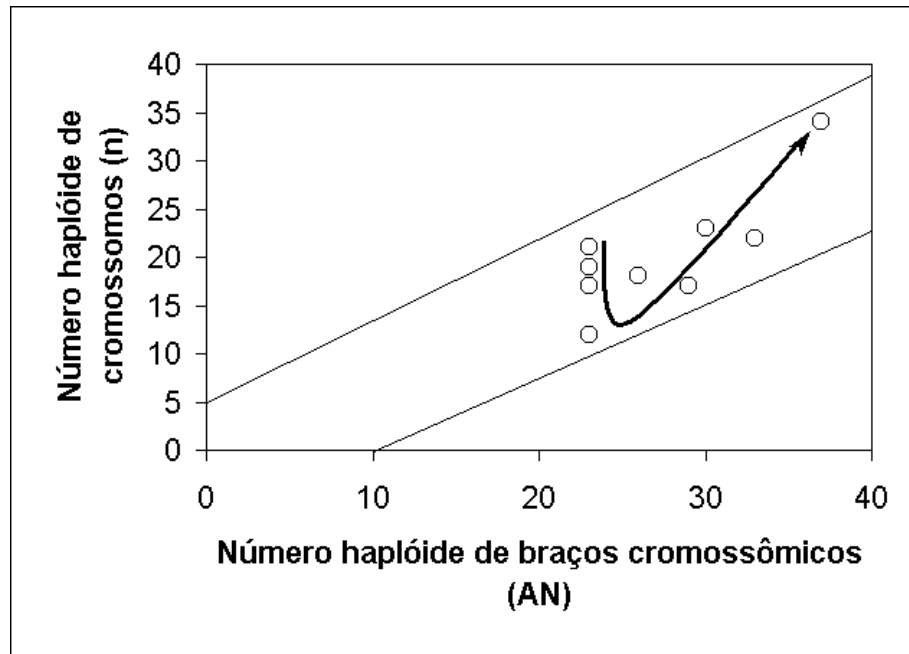


Figura 7 - Cariógrafo do grupo de espécies da tribo Ectatommini.

cromossômicos do tipo fissão, seguida de inversões MA, corroborando mais ainda a Teoria da Interação Mínima (IMAI et al 1986,1988, 1994, 2001, 2002).

Cariógrafos com pontos espalhados e que tocam as linhas de borda, foram observados em espécies dos gêneros *Myrmecia* (IMAI et al., 2001) e *Camponotus* spp. (MARIANO et al., em preparação). Isto leva à suposição de que alguns cariótipos destes gêneros podem ser considerados como menos derivados (IMAI et al, 2001)

Os rearranjos cromossômicos encontrados na tribo Ectatommini vêm confirmar a condição menos derivada da subfamília Ponerinae. Esta característica indica que mais tipos de rearranjos devem ter acontecido no curso da evolução do cariótipo.

4. CONCLUSÕES GERAIS

Cada espécie analisada apresentou um cariótipo característico, concordando portanto com a taxonomia do grupo;

Não foram encontradas diferenças nos cariótipos entre as colônias coletadas em Viçosa/MG e Ilhéus/BA, para a espécie *Gnamptogenys striatula*, ($2n=34$), demonstrando estabilidade cariotípica e sugerindo expansão recente desta espécie;

Em relação à direção de rearranjos cromossômicos nos cariótipos, pelo teste da análise de variância foi observado que os mesmos seguem rearranjos robertsonianos do tipo fissão. O método cariográfico sugere também a presença de inversões, corroborando assim com a Teoria da Interação Mínima;

Não foram encontrados um ou mais cromossomos que poderiam ser definidos como padrões, presente em todas as espécies de cada gênero ou nos gêneros da tribo. Isso leva à necessidade de se fazerem novas tentativas de adaptação de técnicas de bandamentos cromossômicos para localização de um possível marcador cromossômico, para gêneros, pelo menos. Essa

informação, junto com resultados de outros estudos, contribuirá para melhor entendimento da biologia de espécies da tribo Ectatommini.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida Filho, A.J., de (1987). Descrição de seis fêmeas do gênero *Ectatomma* Smith, 1858 (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). An. Soc. Nordestina Zool., 1: 175-183.
- Alonso, M.T.A. (1977) Vegetação. In: Goldenberg, C. ed. Geografia do Brasil: Região Sudeste. Rio de Janeiro: IBGE, 3: 91-118.
- Araújo, S.M.S.R., Pompolo, S. G., Dergam, J. A. S. & Campos, L. A. O. (2000) The B system of *Trypoxylon* (*Trypargilum*) *albitarse* (Hymenoptera: Sphecidae). Cytobios, 101:7-13.
- Baker, R.J., Bickam J.W. & Arnold M.I. (1985). Chromosomal evolution in *Rhogeessa* (Chiroptera: Vespertilionidae): Possible speciation by centric fusions. Evolution, 39: 233-243.
- Blatrix, R. & Jaisson, P. (2000) Optional gamergates in queenright Ponerinae ant *Gnamptogenys striatula* Mayr, Insectes Soc., 47: 193-197.
- Bolton, B. (1994) Identification guide to the ant genera of the World. Harvard University Press, Cambridge, MA. 222p.
- Bolton, B. (1995) A new general catalogue of the ants of the World. Cambridge. Harvard University Press, 504p.
- Brito, R.M. (1998). Caracterização citogenética de duas espécies do gênero *Partamona* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae). Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal de Viçosa.
- Brito, R.M., Costa, M.A. & Pompolo., S.G. (1997) Characterization and distribution of supernumerary chromosomes in 23 colonies of *Partamona helleri* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) Brazil J. Genet., 20: 185-188.

- Brito-Ribon, R.M., Miyazawa, C.S. & Pompolo, S. G. (1999) First karyotype characterization of four species of *Partamona* (Friese, 1980) (Hymenoptera) in Mato Grosso state, Brasil. *Cytobios*, 100:19-26.
- Brown, W.L. Jr. (1958) Contributions toward a reclassification of the Formicidae. II. Tribe Ectatommini (Hymenoptera). *Bull. Mus. Comp. Zool. Harv.*, 118:175-362.
- Brown, W.L. (1973). A comparison of the Hylean and Congo-West African rain forest ant faunas. *Tropical Forest Ecosystems in Africa and South America: a comparative review*. In: MEGGERS, B. J., AVENS, E. S., DUCKWORTH, W. D. (Eds), Smithsonian Institution Press, Washington., 161: 185.
- Caetano, F.H., Jaffé, K. & Zara, F.J. (2002) *Formigas: biologia e anatomia*. Unesp, Rio Claro, 42: il.
- Caixeiro, A.P.A. (1999). Caracterização citogenética da heterocromatina constitutiva e sua implicação na evolução do cariótipo de espécies do gênero *Plebeia* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal de Viçosa.
- Costa, M.A., Pompolo, S.G. & Campos, L.A.O. (1992) Supernumerary chromosomes in *Partamona cupira* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Rev. Brasil. Genet.*, 15:801-806.
- Crosland, M.W.J., Crozier, R.H. (1986) *Myrmecia pilosula*, an ant with only one pair of chromosome. *Science*, 231:1278.
- Crozier, R.H. (1968) Karyotype differences in Australian *Iridomyrmex* of the "detectus" group (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae). *J. Aust. Ent. Soc.*, 7: 25-27.
- Crozier, R.H. (1969) Chromosome number polymorphism in an Australian ponerinae ant. *Can. J. Genet. Cytol.*, 2: 333-339.
- Crozier, R.H. (1970a). Karyotypes of twenty-one ant species (Hymenoptera: Formicidae), with reviews of the known ant karyotypes. *Can. J. Genet. Cytol.*, 12:109-128.
- Crozier, R.H. (1970b) Pericentric rearrangement polymorphism in a North American Dolichoderinae ant (Hymenoptera: Formicidae). *Can. J. Genet. Cytol.*, 12: 541-546.
- Dejean, A. Corbara, B. & Oliva-Rivera, J. (1990) Mise en évidence d'une forme d'apprentissage dans le comportement de capture des proies chez *Pachycondyla* (= *Neoponera*) *villosa* (Formicidae, Ponerinae). *Behaviour*, 115:175-187.

- Fadini, M.A.M., Pompolo S.G. (1996). Cytogenetics of some ant species of the tribe Attini (Hymenoptera: Formicidae) from the region of Viçosa, MG. Brazil. *J. Gen.*, 19:53-55.
- Fernández, F. (1991). Las hormigas cazadoras del género *Ectatomma* (Formicidae: Ponerinae) en Colombia. *Caldasia*, 16: 551-564.
- Fernández, C.F. (1993) Hormigas de Colombia III: Los generos *Acanthoponera* Mayr, *Heteroponera* Mayr y *Paraponera* Fr. Smith (Formicidae: Ponerinae: Ectatommini). Inst. de Ciências Naturales, Universidad Nacional de Colombia, *Caldasia*, 17: 249-258.
- Fowler, H.G., Forti, L.C., Brandão, C.R.F., Delabie, J.H.C. & Vasconcelos, H.L. (1991) Ecologia nutricional de formigas, In: Panizzi, A.R. e Parra, J.R.P. eds., *Ecologia Nutricional de Insetos e suas Implicações no Manejo de Pragas*, Editora Manole e CNPq, São Paulo, 131-223.
- Gomes, L.F. (1995) Estudos citogenéticos em vespas do gênero *Trypoxylon* (Hymenoptera, Sbecidae, Larrinae, Trypoxylonini). Viçosa. MG: UFV, 80p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais).
- Goñi, B., De Zolessi, L.C., Imai H.T. (1983). Karyotypes of thirteen ant species from Uruguay (Hymenoptera, Formicidae). *Caryologia*, 36(4):363-371.
- Goñi, B., Imai, H.T., Kubota, M., Kondo, H.S.Y. & Tho Y.P. (1982) Chromosome observations of tropical ants in Western Malaysia and Singapore. *Ann. Rep. Nat. Genet.*, 32:71.
- Greenbaum, I.F., Baker, R.J. & Ramsey P.R. (1978) Chromosomal evolution and the mode of speciation in three species of *Peromyscus*. *Evolution*, 32: 646-654.
- Hirai, H., Yamamoto, M.T., Taylor, R.W. & Imai, H.T. (1996). Genomic dispersion of 28S rDNA during karyotypic evolution in the ant genus *Myrmecia* (Formicidae). *Chromosoma*, 105: 190-196.
- Hölldobler, B., Wilson, E.O. (1990) *The ants*. Cambridge, MA: Harvard University Press, 732p.
- Hoshiba, H. (1988) Karyological analyses of a stingless bee, *Melipona favosa* (Apidae, Hymenoptera). *Cytologia*, 53: 153-156.
- Hoshiba, H. & Imai, H.T. (1993) Chromosomes evolution of bees and wasps (Hymenoptera, Apocrita) on basis of C- banding pattern analyses. *Jpn. J. Ent.*, 61:465-492.
- Imai, H.T. (1966) The chromosome observation techniques of ants and the chromosome of Formicinae and Myrmicinae. *Acta Hym.*, 2:119-131.

- Imai, H.T. (1991). Mutability of constitutive heterocromatin (C-bands) during eukaryotic chromosomal evolution and their cytological meaning. *Jpn. J. Genet.*, 66:635-661.
- Imai, H.T., Kubota, M. (1972). Karyological studies of Japanese ants (Hymenoptera, Formicidae). II. *Chromosoma (Berl.)* 37: 193-200.
- Imai, H.T. Maruyama, T. (1978). Karyotype evolution by pericentric inversion as a stochastic process. *J. Theor. Biol.*, 70: 253-261.
- Imai, H.T., & Crozier, R.H. (1980). Quantitative analysis of directionality in mammalian karyotype evolution. *Amer. Nat.*, 116: 537-569.
- Imai, H.T., Crozier, R.H., Taylor. R. W. (1977) Karyotype evolution in Australian ants. *Chromosoma*, 59: 341-394.
- Imai, H.T., Crozier, R.H., Taylor. R.W. (1994) Experimental bases for the minimum interaction theory. I Chromosome evolution in ants of the *Myrmecia pilosula* species complex (Hymenoptera: Formicidae: Myrmeciinae). *Jpn. J. Genet.*, 69: 137-182.
- Imai, H.T., Kubota, M., Brown W.L. Jr., Ihara M., Tohari, M. & Pranata R.I. (1985). Chromosome observations on Tropical ants from Indonesia. *Annu. Rep. Nat. Inst. Genet.*, 35: 46-48.
- Imai, H.T., Maruyama, T. Gojobori, Y.I., Crozier, R. H. (1986). Theoretical bases for karyotype evolution. I. The minimum interaction hypothesis. *Am. Nat.*, 128: 900-920.
- Imai, H.T., Satta, Y. & Takahata, N. (2001). Integrative study on chromosome evolution of mammals, ants and wasps based on the Minimum Interaction Theory. *J. theor. Biol.*, 210: 475-497.
- Imai, H.T., Satta, Y., Wada, M. & Takahata, N. (2002). Estimation of the highest chromosome number of eukaryotes based on the Minimum Interaction Theory. *J. theor. Biol.*, 217:61-74.
- Imai, H.T., Taylor, R.W., Crosland, W.J. & Crozier, R.H. (1988a). Modes of spontaneous chromosomal mutation and karyotype evolution in ants with reference to the Minimum Interaction Hypothesis. *Jpn. J. Genet.*, 63:159-185.
- Imai, H.T., Taylor, R.W., Crozier, R.H., Crosland, M.W.J., & Browning, G.D. (1988b). Chromosomal polymorphism in the ant *Myrmecia (pilosula)* n=1. *Ann. Rep. Nat. Inst. Gen.*, 38:82-84.
- Imai, H.T., Taylor, R.W., Kubota, M., Ogata, K., Wada, M.Y. (1990) Notes on the remarkable karyology of the primitive ant *Nothomyrmecia macrops*, and of the related genus *Myrmecia* (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche*, 97:133-140.

- Imai, H.T., Taylor, R.W (1989) Chromosomal polymorphisms involving telomere fusion, centromeric inactivation and centromere shift in the ant *Myrmecia (pilosula)* n=1. *Chromosoma*, 98: 456-460.
- Imai, H.T., Urbani C.B., Kubota, M., Sharma, G.P., Narasimhanna, M.N., DAS B.C., Sharma A.K., Sharma, A. Deodikar G.B., Vaidya V.G., Rajasekarasetty, M.R. (1984) Karyological survey of Indian ants. *Jpn. J. Genet.*, 59: 1-32.
- Imai, H.T., Brown W.L. Jr., Kubota, M., Yong, H.S. & Tho, Y.P. (1983). Chromosome observations on Tropical Ants from Western Malaysia. II. *Annu. Rep. Nat. Inst. Genet.*, 34:66-69.
- Jahyny, B., Delabie, J.H.C. & Fresneau, D. (2002). Mini-sociétés sans reine chez le genre Neotropical *Thaumatomyrmex* Mayr, 1887 (Formicidae: Ponerinae). *Act. des Colloq. Insect. Soc.*, 15:33-35.
- Kempf, W.W. (1972) Catálogo abreviado das formigas da Região Neotropical. *Stud. Entomol.*, 15:3- 344.
- Kerr, W.E. & Silveira, Z.V. (1972) Karyotypic evolution and corresponding taxonomic implications. *Evolution*, 26:197-212.
- Kerr, W.E. (1948) Estudos sobre o gênero *Melipona*. *Ann. Esc. Agr. "Luiz de Queiroz"*, 5:181-276.
- Kerr, W.E. (1952) A variação do número de cromossomos na evolução dos Hymenopteras. *Sci. Genet.*, 4:182-190.
- Kerr, W.E. (1969) Some aspects of the evolution of social bees (Apidae). *Evol. Biol*, 3:119-175.
- Kerr, W.E. (1972) Numbers of chromosomes in some species of bees. *J. Kans. Entomol. Soc.*, 45:111-122.
- Kugler, C. & Brown Jr., W.L. (1982). Revisionary and other studies on the ant genus *Ectatomma*, including the description of two new species. *Search Agric.*, 24: 1-8.
- Lattke, J.E. (1994) Revision of ant genus *Gnamptogenys* in the New World (Hymenoptera: Formicidae). *Inst. de Zoologia Agrícola, Universidade Central de Venezuela, Maracay*, 4:137-193.
- Mampumbu, A.R. (2002) Análise citogenética da heterocromatina e da nor em populações de abelhas sem ferrão *Friesella schrottkyi* (Friese, 1900) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural na área de Biologia Celular), Universidade Estadual de Campinas.

- Mariano, C.F.S., Pompolo, S.G., Delabie, J.H.C.(1999) Citogenética das espécies gêmeas e simpátricas *Pachycondyla vilosa* e *Pachycondyla* sp 'inversa' (Ponerinae). *Naturalia*, 24: 215-217.
- Mariano, C.F.S., Delabie J.H.C., Nakayana, K., Fresneau, D. & Pompolo, S.G. (2001a). O complexo *Pachycondyla apicalis* Latreille- *Pachycondyla obscuricornis* Emery (Formicidae: Ponerinae): um "grupo espécies". *Anais do XV Encontro de Mirmecologia*, 375-378.
- Mariano, C.F.S., Pompolo, S.G., Delabie, J.H.C. & L.A.O. Campos (2001b) Estudos cariotípicos de algumas espécies neotropicais de *Camponotus* Mayr (Hymenoptera, Formicidae). *Rev. Brasil. Entomol.*, 45: 267-274.
- Menezes, M.B.F. (1997) Caracterização citogenética e análise da heterocromatina constitutiva em *Tetragonisca angustula angustula* (Hymenoptera, Meliponinae). Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal de Viçosa.
- Moreira, C.M.L.C. (1997) Caracterização cariotípica de três espécies do gênero *Friesomelita* (Hymenoptera, Meliponinae). *Rev. Brasil. Genet.*, 18: 181-184.
- Pascoe, P.L., Patton, S.J., Critcher, R. & Dixon, D.R. (1996). Robertsonian polymorphism in the marine gastropod, *Nucella lapillus*: advances in karyology using rDNA loci and NORs. *Chromosoma*, 104: 455-460.
- Peeters, C. (1991) The occurrence of sexual reproduction among ant workers. *Biol. J. Linnean Soc.*, 44: 141-152.
- Pompolo, S.G. & Campos, L.A.O. (1995) Karyotypes of two species of stingless bees, *Leurotrigona muelleri* and *Leurotrigona pusila* (Hymenoptera, Meliponinae). *Rev. brasil. Genet.*, 18: 181-184.
- Rocha, M.P. & Pompolo, S.G. (1998) Karyotypes and heterocromatin variation (C-bands) in *Melipona species* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) *Genet. Mol. Biol.*, 21: 41-45.
- Rocha, M.P., Pompolo, S.G., Dergam, A.D., Fernandes, A. & Campos, L.A.O. (2002). DNA characterization and karyotypic evolution in bee genus *Melipona* (Hymenoptera: Meliponini). *Hereditas*, 136:19-27.
- Rocha, M.P. (2002). Análises citogenéticas em abelhas do gênero *Melipona* (Hymenoptera, Meliponinae). Dissertação (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural na área de Biologia Celular) Universidade Estadual de Campinas.
- Santos-Colares, M.C., Viégas, J., Martino Roth, M.G., & Loeck, A.E. (1997). Preparation of mitotic chromosomes of leaf-cutting ants from the genera *Atta* and *Acromyrmex*. *Brazil. J. Genet.*, 20: n 1: 20-25.

- Sevilha, A.C., Paula, A. de, Lopes, W.P., Silva, A.F. da (2001) Fitossociologia do estrato arbóreo de um trecho de floresta estacional no Jardim Botânico da Universidade Federal de Viçosa (Face sudoeste), Viçosa, Minas Gerais. *Rev. Arvore*, 25(4), 431-443.
- Scher, R. (1996) Diversidade cariotípica em uma população de *Trypoxylon (Tripargilum) nitidum* (Hymenoptera, Sphecidae) do Parque Florestal Estadual do Rio Doce (MG). Viçosa, MG: UFV, Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal de Viçosa, 73.
- Tjan, K.N., Imai, H.T., Kubota, M., Brown W.L.J., Gotwald W.H.J. Yong, H.S. & Leh, C. (1986) Chromosome observations of Sarawak ants. *Ann. Rep. Nat. Inst. Genet.*, 36:57.
- White, M.J.D. (1973) *Animal cytology and evolution*. London: Cambridge University Press, 916p.