

# **Efeito da altitude na diversidade genética de *Cephalotes pussilus* Latreille, 1802 (Hymenoptera: Formicidae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil.**

**Luan Melo Andrade<sup>1</sup>; Eddy José Francisco de Oliveira<sup>2</sup>**

1. Bolsista PIBIC/FAPESB, Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [luan\\_wushu@hotmail.com](mailto:luan_wushu@hotmail.com)
2. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [eddyf@uefs.br](mailto:eddyf@uefs.br)

**PALAVRAS-CHAVE:** Formigas; Genética de Altitude; ISSR.

## **INTRODUÇÃO**

A distribuição espacial e temporal da biodiversidade é resultante de uma série de fatores ecológicos de caráter físico, químico e biológico que, conjunta ou separadamente, provocaram processos evolutivos complexos nas diversas formas de vida. Uma das formas de se avaliar a biodiversidade, ou alterações nela devido à ação humana, é o uso de espécimes que tem um grande potencial para serem bioindicadores. As formigas têm grande potencial para serem modelo em estudos de biodiversidade e indicadoras de qualidade ambiental por sua grande importância ecológica, possuírem distribuição geográfica ampla, alta riqueza local e regional, grande número de espécies, taxonomia e ecologia relativamente bem conhecidas, serem sensíveis a mudanças na condição do ambiente e facilmente amostradas (Alonso & Agosti, 2000). Sendo um dos gêneros mais diversos, *Cephalotes* também conhecido com formigas tartarugas, por causa de sua armadura de aparência plana e bem bizarra, tem como principais características uma dieta amplamente baseada em pólen, seus ninhos são basicamente cavidades de plantas pré-existentes, e se comportam como uma casta de soldados dedicada essencialmente à defesa do ninho (Prado & Brandão, 2013).

A Chapada Diamantina está situada na posição central no estado da Bahia, essa ecorregião é uma das mais elevadas do Bioma Caatinga, quase sempre acima de 500m de altitude, mas variam em geral de 200 a 1.800 m. Características como altitude ou latitude influenciam na divergência genética de populações, e vários trabalhos evidenciam isso, como de (Hirao & Kudo, 2004), que mostrou que a altitude foi uma importante variável que explicou diferenças genéticas em três espécies de ervas.

Na atualidade existem vários métodos de se estudar a diversidade genética, e um dos métodos é a utilização de marcadores moleculares, que se tornou possível à identificação e estudos entre a distância genética dos organismos. Com seu uso a qualidade dos estudos em genética subiu muito, melhorando as análises, dando resultados mais consistentes e satisfatórios. Vários marcadores são utilizados em estudos com insetos, no qual se destaca o marcador ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) que é baseado numa técnica chamada de PCR (Reação da Polimerase em Cadeia) (Zietkiewicz et al. 1994). Produtos que são obtidos através da reação de ISSR na reação de PCR, possuem sequências de tamanho diferentes que se localizam entre regiões repetidas microssatélites, iguais e orientadas em direções opostas.

Para entender mais sobre o efeito, o objetivo geral foi analisar a diversidade genética de formigas *Cephalotes pussilus*, em gradientes de altitude, na região da Chapada Diamantina

com marcadores moleculares ISSR. E tendo com objetivos específicos a análise do fluxo gênico de *Cephalotes pussilus* na Chapada Diamantina e avaliação do efeito da altitude na variabilidade genética em *Cephalotes pussilus*.

A necessidade de estudar os efeitos da altitude na diversidade genética de formigas na Chapada Diamantina tem como finalidade conhecer e entender, até que ponto a altitude pode influenciar na adaptação dessas populações. Visto que é esse trabalho ainda não foi realizado com essas populações nos morros selecionados, é de grande importância para a análise da diversidade da população de *Cephalotes* sp, como elas reagiram geneticamente a diferença de altitude e também auxiliar trabalhos futuros. O trabalho feito também é justificado principalmente pelo baixo índice de custo, um plano de trabalho bem fundamentado, eficácia bastante sustentada. O uso do ISSR também foi bastante importante no trabalho, pois possuem técnicas simples, e podem ser usados com qualquer grupo de organismo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram coletadas amostras de *Formicidae*s na Chapada Diamantina, especificamente no Vale do Capão, em dois morros principais, com coletas feitas sobre, ao longo e entre os morros. O número amostral foi de 192 indivíduos, correspondente aos meses de coleta. As amostras foram identificadas em laboratório com a ajuda de uma lupa, e dados científicos de um website (AntWeb) e especialista como *Cephalotes pusillus*.

As extrações de DNA genômico foram realizadas a partir de uma perna dos espécimes de *Cephalotes pussilus* coletados ao longo de áreas dentro do Parque Nacional da Chapada Diamantina e entorno. As amostras foram acondicionadas em álcool 80%, sendo transportadas até o Laboratório de Entomologia-Molecular (UEFS), onde foram mantidas em freezer até o início da extração.

Foram avaliados um total de 10 primers de ISSR por PCR desenvolvidos pela University of British Columbia (UBC), Vancouver, Canadá com a finalidade de selecionar aqueles com maior polimorfismo, maior número e melhor resolução de bandas para serem utilizados na caracterização molecular de formigas. Os fragmentos de ISSR foram tratados como marcadores dominantes e julgados como caracteres binários: presente (1) ou ausente (0). Uma matriz binária (presença ou ausência do fragmento) será obtida e com ela estimará os índices de diversidade genética dentro e entre populações. A frequência dos alelos nas populações foi inferida pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg. As estimativas incluíram a o número Total de Bandas (NTB); Percentual de locos polimórficos (PLP); Número de alelos por locos (Na); Total de fragmentos encontrados em cada população; Número de alelos exclusivos (Ne): Total de fragmentos encontrados em uma única população; Heterozigosidade dentro do ponto amostrado - considerando populações(Hs) - diversidade gênica de Nei (1973)

## **RESULTADOS**

Encontramos diferenças nos padrões de diversidade genética entre os indivíduos ao longo dos diferentes padrões de altitude, indicando isolamento por distancia entre os pontos amostrados. Foram testados todos os 10 primers, mas apenas 5 destes primers obtiveram bons resultados para avaliação da diversidade genética em *Cephalotes pussilus*. O número de locos

total dos 5 primers com melhores resultados foi de 48 (variando de 6 a 12). Na análise dos géis de poliacrilamida, o primer Terry foi o de melhor resultado e evidenciou um total de 12 fragmentos de DNA, entre 300 e 500 pares de base. A proporção de polimorfismos foi considerada alta variando de 80% nos pontos 1 e 2 (altitudes acima de 1000) e 60% (para altitudes abaixo de 1000) no ponto 3 (Vale do Capão). Com os três morros em altitudes diferenciadas, sendo abaixo e acima de 1000m, foram observados diferenciação genética por influência altitudinal. Não houve uma clara evidencia de estruturação genética, constando apenas uma população.

Quadro 1. Diversidade genética em *Cephalotes pussilus*.

Pontos amostrados	N	NTB	PLP (%)	Na	Ne	Hs
Morro do Candobá (CAM)	64	21	79,7	1,49	1,69	0,54
Morro da Fumaça (FUM)	84	20	80,9	1,47	1,66	0,51
Vale do Capão (CAP)	44	20	61,5	1,39	1,63	0,40

Número Total de Bandas (NTB); Percentual de locos polimórficos (PLP); Número de alelos por locos (Na); Total de fragmentos encontrados em cada população; Número de alelos exclusivos (Ne): Total de fragmentos encontrados em uma única população; Heterozigosidade dentro do ponto amostrado - considerando populações(Hs) - diversidade gênica de Nei (1973).

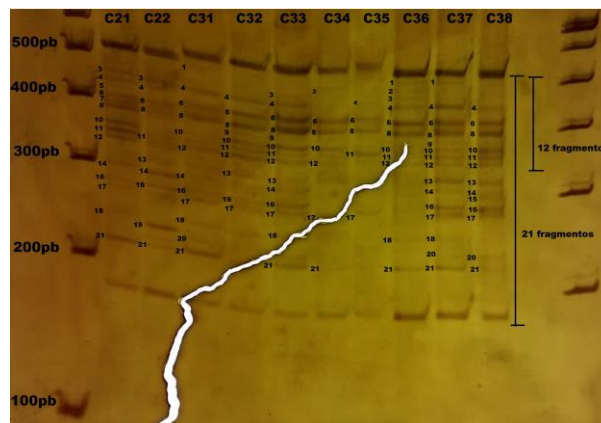


Figura 1: Eletroforese em gel de poliacrilamida, com o uso do primer Terry[GTG]<sub>4</sub>- RC, mostrando 21 fragmentos totais de DNA entre 200 e 500 pares de base e 12 fragmentos entre 300 e 500 pares de base( usado para a análise de diversidade).

## DISCUSSÃO

Observando os índices do quadro 1 podemos inferir uma diferenciação genética em ação da altitude e que também obteve um fluxo gênico diferente bem evidenciado. O percentual de locus polimórficos foi bastante alto, principalmente entre as formigas com altitude acima de 1000m, mostrando que a altitude influenciou diretamente na diversidade genética de *Cephalotes pussilus*. O número de fragmentos exclusivos para cada local de coleta, também mostrou um maior número, apesar de pouco nos locais com altitudes acima de

1000m, com uma fração maior de alelos exclusivos, tem-se a ideia de um isolamento entre as formigas com altas altitudes do que com as de altitude menor. A heteroziguidade dentro da população também foi maior nas populações que foram coletadas nos locais de altitude superior a 1000m, sendo os pontos 1 e 2 quase 1,6 x mais heterozigoto do que o ponto 3, mostrando um maior isolamento entre os pontos 1 e 2. Em questão da diversidade genética entre os pontos amostrados, observa-se que mesmo com isolamentos geográficos e altitude influenciando fortemente na diversidade genética, existe um fluxo gênico diferenciado entre eles.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A diversidade genética apresentada ao longo dos três pontos indicou que *Cephalotes pussillus* possui uma diferenciação devido à altitude e possivelmente isolamento por distância, tendo um fluxo gênico diferenciado nos pontos amostrados. O ISSR é um ótimo marcador para estudos, mesmo em escala local (fina escala).

## REFERÊNCIAS

- BORBAR. S., GARCIA M. S., KOVALESKI A., OLIVEIRA A. C., ZIMMER P. D., BRANCO J. S. C. & MALONE G. Dissimilaridade Genética de Linhagens de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Através de Marcadores Moleculares ISSR. *Neotropical Entomology*. 2005; 34(4):565-569.
- BRAGA D. L., LOUZADA J. N. C., ZANETTI R. & DELABIE J. Avaliação Rápida da Diversidade de Formigas em Sistemas de Uso do Solo no Sul da Bahia. *Neotropical Entomology*. 2010; 39(4):464-469.
- JUNCÁ F. A., FUNCH L. & ROCHA W. Biodiversidade e Conservação da Chapada Diamantina. Série Biodiversidade 13. Brasília: Ministério do Meio Ambiente; 2005.
- NUNES L. A., PINTO M. F. C., CARNEIRO P., PEREIRA D. G. & WALDSCHMIDT A. M. Divergência Genética Em *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae) Com Base Em Caracteres Morfológicos. *Bioscience Journal*. 2007; 23(1): 1-9.
- Power S. Ecological specialization and the evolution of a specialized caste in *Cephalotes* ants. *Functional Ecology*. 2008, 22:902–911.
- PRADO L. P. & BRANDÃO C. R. F. A catalogue of Cephalotini ant types (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae) deposited in the Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia*. 2013; 53(20):285-293.
- SANTOS M. S., LOUZADA J. N. C., DIAS N., ZANETTI R., DELABIE J. H. C. & NASCIMENTO I. C. Riqueza de formigas (Hymenoptera, Formicidae) da serapilheira em fragmentos de floresta semidecídua da Mata Atlântica na região do Alto do Rio Grande, MG, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*. 2006; 96(1):95-101.
- SOUZA G. A., CARVALHO M. R. O., MARTINS E. R., GUEDES R. N. C. & OLIVEIRA L. O. Diversidade genética estimada com marcadores ISSR em populações brasileiras de *Zabrotes subfasciatus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2008; 43(7):843-849.

