

EFEITO DE AGROQUÍMICOS SOBRE A DIVERSIDADE GENÉTICA E O
PADRÃO COMPORTAMENTAL DE POPULAÇÕES DE *WASMANNIA*
AUROPUNCTATA (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) ESTABELECIDAS EM
CACAUEIROS DA BAHIA, BRASIL.

Samara Ferreira Osório¹, Caroline Garcia².

RESUMO

Este artigo apresenta a "pixixica", uma espécie de formiga nativa de zonas neotropicais, incluindo o Brasil. Apesar da sua adaptabilidade ao ambiente, a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) lista a espécie como uma das 100 piores espécies invasoras do mundo. A capacidade da formiga de se reproduzir clonalmente leva à formação de uma grande colônia unificada, e estudos sugerem dois tipos de estruturas coloniais para a *Wasmannia auropunctata*: a unicolonial e a multicolonial. Na região da Mata Atlântica, a formiga é uma praga para as plantações de cacau, especialmente no sul da Bahia, onde a cultura é de grande importância econômica. A picada dolorosa da formiga durante a colheita faz com que os agricultores deixem o cacau sem ser colhido, levando a uma perda de renda. O projeto destaca os efeitos negativos do uso de pesticidas no meio ambiente e na saúde humana, enfatizando o papel crucial das formigas na preservação do meio ambiente. O estudo tem como objetivo identificar o impacto do uso de pesticidas na estrutura populacional, comportamento e na variabilidade genética da *W. auropunctata* nas plantações de cacau.

PALAVRAS-CHAVE: cacau, conservação, formiga, invasoras, pesticidas, pixixica.

EFFECT OF AGROCHEMICALS ON THE GENETIC DIVERSITY AND BEHAVIORAL
PATTERN OF *WASMANNIA AUROPUNCTATA* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)
POPULATIONS ESTABLISHED IN COCOA TREES IN BAHIA, BRAZIL.

ABSTRACT

This article presents an analysis of the "pixixica," a species of ant native to neotropical regions, including Brazil. Despite its adaptability to the environment, the International Union for Conservation of Nature (IUCN) lists this species as one of the 100 worst invasive species in the world. The ant's ability to reproduce clonally leads to the formation of a large unified colony, and studies suggest two types of colonial structures for *Wasmannia auropunctata*: unicolonial and multicolonial. In the Atlantic Forest region, the ant poses a significant threat to cocoa plantations, especially in southern Bahia, where the crop holds great economic importance. The painful sting of the ant during harvesting causes farmers to abandon cocoa, resulting in income loss. This project highlights the adverse effects of pesticide use on the environment and human health, emphasizing the crucial role of ants in environmental preservation. The study aims to identify the impact of pesticide use on the population structure, behavior, and genetic variability of *W. auropunctata* in cocoa plantations.

KEYWORDS: ant, cocoa, conservation, invasive, pesticides, pixixica.

¹ Graduanda em ciências biológicas, Av. Ary barroso, 64. Jequié - BA, 45205-490

² Profa. Titular – DCB/UESB. Av. José Moreira Sobrinho, s/n - Jequezinho, Jequié - BA, 45205-490

INTRODUÇÃO

Wasmannia auropunctata, também conhecida como “pixixica”, é uma espécie de formiga nativa da América do Sul, incluindo o Brasil. Essa espécie é conhecida por sua capacidade de se adaptar a diferentes tipos de ambiente, incluindo florestas tropicais, plantações de cacau e áreas urbanas.

Embora seja uma espécie nativa, a *W. auropunctata* é considerada uma das 100 piores espécies invasoras do mundo pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN). Isso ocorre porque a formiga é capaz de formar colônias grandes e unificadas, o que a torna uma ameaça para a biodiversidade local.

Na região da Mata Atlântica, no sul da Bahia, a *W. auropunctata* é particularmente problemática para as plantações de cacau. Muitos agricultores usam pesticidas para controlar a *W. auropunctata*, esses produtos químicos têm efeitos negativos na saúde humana e no meio ambiente. Além disso, o uso excessivo de pesticidas pode levar à seleção de populações de formigas resistentes, o que torna o controle ainda mais difícil.

Diversos estudos mostram que o uso de agrotóxicos tem efeito sobre a ontogenia, comportamento e diversidade genética de insetos, fruto direto do processo de bioacumulação (Forfert et al., 2017; Prado-Silva et al., 2018). As formigas são consideradas elementos chaves na conservação do ambiente, colaborando com a fixação de nitrogênio no solo, dispersão de sementes e decomposição da matéria orgânica (LEAL et al., 2003).

A partir dessas alegações o presente estudo busca identificar os possíveis efeitos causados pelo uso de agrotóxico na diversidade genética desta espécie, e relacionar os resultados a um problema maior que possa afetar demais espécies presentes nas lavouras de cacau amostradas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a análise da variabilidade genética, dez indivíduos adultos foram selecionados por árvore, totalizando N=400, conforme o protocolo de extração do WizardGenomic DNA Purification Kit da Promega Corporation. A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) será realizada com trinta primers aleatórios disponíveis no Laboratório de Biologia Molecular da UESB, seguindo o protocolo adaptado de Zietkiewicz et al. (1994), utilizando marcadores ISSR com primers UBCs (British Columbia University). Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de

agarose padrão Argagen a 1,2%, corados com blue-juice em conjunto com GelRedNucleicAcid (Biotium) e fotografados no L-PIX.

Para o cálculo da diversidade genética (H_e), o programa GenAIEx v.65 (Peakall & Smousse, 2012) será utilizado. A Análise de Variância Molecular (AMOVA) será realizada para verificar a estruturação genética dentro e entre as populações amostradas da espécie, bem como para determinar índices de estruturação das mesmas, conforme Wright (1951), utilizando o software Arlequin (Excoffier et al., 1992). A análise Bayesiana será conduzida para estimar a estruturação populacional, utilizando os softwares STRUCTURE v. 2.3.4 (Falush et al., 2007) e STRUCTURE HARVESTER v. 0.6.9, de acordo com o método de Evanno et al. (2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Realizou-se teste com o protocolo de extração com o WizardGenomic DNA Purification Kit da Promega Corporation que variou entre 57,9 – 140,5ng/ μ l, e este apresentou um resultado satisfatório.

Para padronização do PCR, estão sendo realizados testes com alguns dos primers já propostos no projeto (UBC-804; UBC-808; UBC-814; UBC-842), assim como testes de gradiente de temperatura de anelamento, reagentes e concentrações. Foram realizados teste padronizados utilizando o protocolo de extração WizardGenomic DNA Purification Kit da Promega Corporation com 10 indivíduos de wasmannia, 8 amostras de indivíduos adultos e 2 amostras de indivíduos na fase de pupa. O material extraído foi quantificado Nanodrop.

Individuo	ng/ μ l
1 (Adulto)	30,3
2 (Adulto)	4,7
3 (Adulto)	14,1
4 (Adulto)	23,6
5 (Adulto)	17
6 (Adulto)	17,2
7 (Adulto)	11,6
8 (Adulto)	13,3
9 (Pupa)	355,5
10 (Pupa)	185,1

Tabela 1. Resultado da quantificação do material para teste.

A partir dos valores presentes na tabela 3, foi determinado que os testes seguiriam utilizando as amostras 9 e 10 (Pupa) que apresentaram melhor quantidade de DNA quantificado, 355,5 ng/ μ l e 185,1 ng/ μ l respectivamente.

Foi realizado teste de PCR com diferentes temperaturas e concentrações de reagentes.

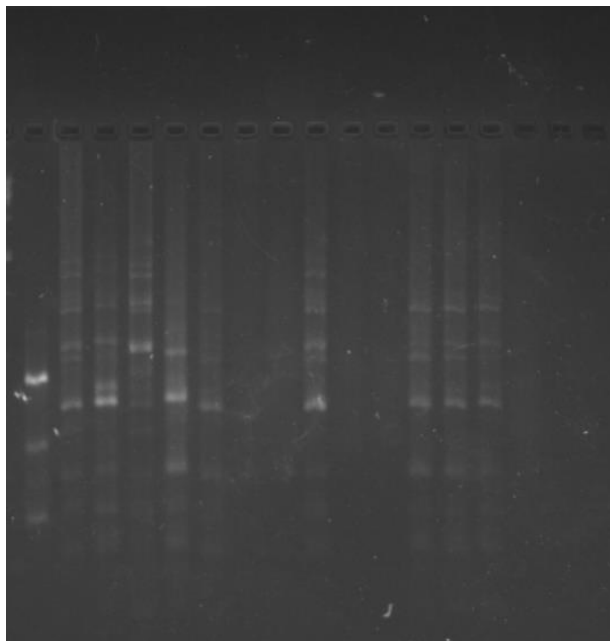


Figura 1. Resultado do teste de PCR com a amostra 9, tabela 3, usando o UCB855 nas temperaturas de 43°, 45°, 47° e 49°, com diferentes concentrações de Taq DNA polimerase, a 0,2 μ l e 0,5 μ l e DNA a 1 μ l e 0,5 μ l.

Os testes apresentaram amplificação em diferentes locus e em diferentes regiões. O que requer mais teste para a análise dos dados. Até o momento todos estão sendo considerados, levando em conta que os testes foram realizados com DNA de pupa.

CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES

Nos testes todos os marcadores mostraram-se potencialmente polimórficos e amplificaram, o primers que mais foi expresso foi UBC807, UBC855 e UBC810, que apresentaram bandas mais aparentes. Alguns primers ainda irão passar por testes e após esses testes será feita a análise definitiva das populações. Estas amostragens podem permitir uma análise genética e possivelmente apresentará resultados dentro do prazo esperado.

Destaca-se também os resultados alcançados utilizando o DNA dos indivíduos na fase de pupa, que apresentaram maior quantidade de DNA por microlitro e melhores resultados nas ampliações nos géis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHIFFLET, L.; GUZMA, N. V.; REY, O.; CONFALONIERI, V. A.; CALCATERRA, L. A. Southern expansion of the invasive ant *Wasmannia auropunctata* within its native range and its relation with clonality and human activity. *PLoS ONE*, 2008.
2. DE MENDIBURU, F. *agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. 2021.
3. DELABIE, J. H. C., & CAZORLA, I. M. 1991. Danos causados por *Planococcus citri* Risso (Homoptera, Pseudococcidae) na produção do cacau. *Agrotropica*, vol. 3, no. 1, p. 53-57. ERRARD, C.; HEFETZ, A. Label familiarity and discriminatory ability of ants reared in mixed groups. *Insects Sociaux*, p. 189-198, 1997.
4. EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*, v. 14, 2005.
5. EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analyses of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 1992.
6. AGOSTI, D.; ALONSO, L. E. The ALL protocol. In: AGOSTI, D.; MAJER, J. D.; ALONSO, L. E.; SCHULTZ, T. R. *Ants: standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. *Biological Diversity handbook*, 2000.
7. ERRARD, C.; HEFETZ, A. Label familiarity and discriminatory ability of ants reared in mixed groups. *Insects Sociaux*, p. 189-198, 1997.
8. EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analyses of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 1992.
9. FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*, v. 7, 2007.
10. INSTITUTO CABRUCÁ. História do Cacau. Disponível em: <<http://www.cabruca.com.br>>. Acesso em 20 de novembro de 2020.
11. KLINGENBERG, C. P. Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Sym-*