



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

JAROSANA NUNES CARDOSO

**IMUNIDADE CELULAR EM OPERÁRIAS DE FORMIGAS-CORTADEIRAS
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE), COLETADAS EM ÁREAS EXTERNAS AO
NINHO**

Gurupi, TO

2024

Jarosana Nunes Cardoso

**Imunidade celular em operárias de formigas-cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae),
coletadas em áreas externas ao ninho**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção vegetal pela Universidade Federal do Tocantins (UFT), como requisito à obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Danival José de Souza

Gurupi, TO

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

- N972i Nunes Cardoso, Jarosana.
Imunidade celular em operárias de formigas-cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae), coletadas em áreas externas ao ninho. / Jarosana Nunes Cardoso. – Gurupi, TO, 2024.
57 f.
Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Produção Vegetal, 2024.
Orientador: Danival José de Souza
1. Atta spp. 2. Acromyrmex sp. 3. Hemócitos. 4. Sistema imunológico. I.
Título

CDD 635

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).


Jarosana Nunes Cardoso

Imunidade celular em operárias de formigas-cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae),
coletadas em áreas externas ao ninho


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. Foi avaliado para a obtenção do título de Mestre (a) em Produção Vegetal e aprovada (o) em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 07 / 04 / 2024


Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente
 **DANIVAL JOSE DE SOUZA**
Data: 17/01/2025 12:16:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Danival José de Souza, UFT

Documento assinado digitalmente
 **RAQUEL MARCHESAN**
Data: 17/01/2025 15:34:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Raquel Marchesan, UFT

Documento assinado digitalmente
 **MARIELA OTONI DO NASCIMENTO**
Data: 17/01/2025 20:24:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Mariela Otoni do Nascimento, UFT

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original.”*

Albert Einstein

AGRADECIMENTO

Agradeço à Deus, pela oportunidade que ele me concedeu para realização deste sonho, que para mim tanto significa;

À minha família que tanto me incentivou, para que esse sonho se tornasse a realidade de hoje, em especial minha filha Suzane e meu esposo Gefferson;

À Universidade Federal do Tocantins, e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela oportunidade de qualificação profissional;

Ao Prof. Dr. Danival José de Souza, pela paciência, dedicação e incentivo a buscar conhecimento, e aprimorar a leitura e a escrita;

Aos examinadores da banca, pelas sugestões e conselhos para melhorar a qualidade do trabalho apresentado.

Ao grupo LASIM- Laboratório de Simbioses-Insetos e Microrganismos, pela colaboração, convívio e compartilhamentos de conhecimentos, Karolinne Borges, Lorryne Martins, Heyde Valéria e Mateus Sarmiento;

Aos professores e colaboradores do Programa de Pós-Graduação em Produção vegetal pelos ensinamentos transmitidos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro;

Aos colegas de curso do curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal por todo apoio recebido;

A todos que contribuíram para que este sonho se tornasse uma realidade, em especial à Karolinne Borges e Lorryne Martins, que com muito carinho cultivaram uma amizade que, se Deus quiser ultrapassará os anos vindouros.

RESUMO

As formigas-cortadeiras são insetos sociais de grande importância agrônoma devido à desfolha que causam em diversas culturas. O sistema imune inato dos insetos, especialmente nos eussociais, é crucial para a defesa contra patógenos e a manutenção da saúde do indivíduo e da colônia. A resposta imune celular é realizada por células presentes na hemolinfa, os hemócitos, que desempenham funções como encapsulação, nodulação, fagocitose e melanização. Insetos produzem vários tipos de hemócitos que são tradicionalmente identificados usando características morfológicas, histoquímicas e funcionais. O presente estudo foi dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo, investigou-se a relação entre o tamanho da cápsula cefálica de dois grupos de operárias - forrageadoras e operárias maiores externas ao ninho, denominadas "soldadas" - e a quantidade de hemócitos livres circulantes na hemolinfa das formigas-cortadeiras *Atta laevigata* e *Atta sexdens*, quantidade de hemócitos foi quantificada em câmara de Neubauer e largura da cápsula cefálica. No segundo capítulo, caracterizou-se e determinou-se a proporção de tipos de hemócitos na hemolinfa de *Acromyrmex balzani*, *A. sexdens* e *A. laevigata*. A contagem de hemócitos e identificação das células foi realizada no Laboratório de Simbioses Insetos-Microrganismos (LASIM), na Universidade Federal do Tocantins, Câmpus de Gurupi. Para quantificar os números de hemócitos de cada tipo utilizou-se o software ImageJ para análise das lâminas. Após a extração da hemolinfa de dez operárias de cada espécie pelo método de capilaridade, foram confeccionadas três lâminas para cada espécie. Estas lâminas foram coradas pelo método Coloração May Grunwald – Giemsa para visualização dos hemócitos. A área da lamínula foi quantificada utilizando o programa ImageJ, permitindo determinar a quantidade de cada tipo de hemócito presente. Adicionalmente, através do programa R Core Team foi realizado as análises de correlação para as variáveis relacionadas aos tipos de células presentes na hemolinfa. Esta etapa permitiu investigar possíveis relações entre a abundância de diferentes tipos de hemócitos e outras variáveis estudadas, como características morfológicas das formigas ou condições ambientais dos ninhos.

Palavras-chave: *Atta spp.* *Acromyrmex sp.* Hemócitos. Hemolinfa. Sistema imunológico.

ABSTRACT

Leaf-cutting ants are social insects of great agronomic importance due to the defoliation they cause in various crops. The innate immune system of insects, especially in eusocial ones, is crucial for defense against pathogens and maintaining individual and colony health. The cellular immune response is carried out by cells present in the hemolymph, called hemocytes, which perform functions such as encapsulation, nodulation, phagocytosis, and melanization. Insects produce various types of hemocytes traditionally identified using morphological, histochemical, and functional characteristics. This study was divided into two chapters. The first chapter investigated the relationship between the size of the head capsule of two groups of workers - foragers and larger workers outside the nest, referred to as "soldiers" - and the quantity of freely circulating hemocytes in the hemolymph of leaf-cutting ants *Atta laevigata* and *Atta sexdens*. Hemocyte quantity was quantified in a Neubauer chamber, along with head capsule width. In the second chapter, hemocyte types in the hemolymph of *Acromyrmex balzani*, *A. sexdens*, and *A. laevigata* were characterized and determined. Hemocyte counting and identification were conducted at the Laboratory of Insect-Microorganism Symbioses (LASIM), Federal University of Tocantins, Gurupi Campus. To quantify the numbers of each hemocyte type, ImageJ software was used for slide analysis. After hemolymph extraction from ten workers of each species using capillarity, three slides were prepared for each species. These slides were stained using the May Grunwald-Giemsa staining method for hemocyte visualization. The area of the slide was quantified using the ImageJ program, allowing determination of the quantity of each type of hemocyte present. Additionally, correlation analyses for variables related to cell types present in the hemolymph were performed using the R Core Team program. This step allowed investigation of possible relationships between the abundance of different hemocyte types and other variables studied, such as morphological characteristics of ants or environmental conditions of the nests.

Keywords: *Atta* spp. *Acromyrmex* sp. Hemocytes, Hemolymph. Immune system.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 - (A) <i>A. sexdens</i> , coletas de forrageadoras e soldados; (B) <i>A. laevigata</i> , coleta de forrageadoras e soldados; (C) Potes com furo na tampa contendo algodão umedecido em água para armazenar e transportar as espécies e castas coletadas.....	26
Figura 2 - (A) Potes transportados para o laboratório; (B) Extração da hemolinfa; (C) Eppendorf com anticoagulante + hemolinfa; (D) Contagem de hemócitos em Câmara de Neubauer.....	29
Figura 3 - Quantidade média total de hemócitos por microlitros de hemolinfa das duas espécies de formigas-cortadeiras <i>Atta sexdens</i> e <i>Atta laevigata</i> analisadas.	29
Figura 4 - Quantidade média total de hemócitos/ μ l de hemolinfa entre castas de operárias soldados e operárias forrageadoras das espécies <i>Atta sexdens</i> e <i>Atta laevigata</i>	30
Figura 5 - Interação entre tamanho de cápsula cefálica (mm), e castas de operárias soldados e forrageadoras das espécies <i>Atta sexdens</i> e <i>Atta laevigata</i>	31
Figura 6 - Procedimento para coloração das células e montagem das lâminas para microscopia óptica. (a) - corante May Grünwald e Giemsa-Rosenfeld para coloração das lâminas. (b) - Lâminas de vidro coradas; (c) - Microscópio óptico.....	46
Figura 7 - Correlações avaliadas entre os tipos de hemócitos.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Média de hemócitos/ μl encontrados nas espécies <i>A. sexdens</i> e <i>A. laevigata</i>	28
Tabela 2. Média geral comparativa dos tamanho das cápsulas cefálicas das espécies <i>A.laevigata</i> e <i>A.sexdens</i>	28
Tabela 3. Contagem de hemócitos de espécies formigas.....	488
Tabela 4 Contagem total de hemócitos em porcentagem	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PPGPV	Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal
UFT	Universidade Federal do Tocantins
OE	Oenocitoides
PL	Plasmatócitos
ES	Esferulócitos
PR	Pró-hemócitos
GR	Granulócitos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2 VARIAÇÃO DO NÚMERO DE HEMÓCITOS DE OPERÁRIAS COLETADAS EM ÁREAS EXTERNAS DO NINHO DE DUAS ESPÉCIES ATTA (HYMENOPTERA)	15
3 TIPOS DE CÉLULAS ENCONTRADAS NA HEMOLINFA DE OPERÁRIAS EXTERNAS AO NINHO EM TRÊS ESPÉCIES DE FORMIGAS-CORTADEIRAS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE).....	41