

IDENTIFICACION DE LAS FEROMONAS DE TRILLA DE HORMIGAS CORTADORAS (FORMICIDAE: ATTINI)¹

Oscar Marino Mosquera² y Joao Sabino de Oliveira³

¹ Tesis de Magister en Agroquímica.

² Escuela de Tecnología Química de la Universidad Tecnológica de Pereira, A.A. 97, Pereira.

³ Departamento de Química, Universidad Federal de Vicosa, 36570 Vicosa, M.G. Brasil.

Keywords: Pheromone, leaf-cutting ant, trail pheromone, *Atta laevigata*, *Atta bisphaerica*, *Acromyrmex subterraneus molestans*.

RESUMEN

Del extracto en diclorometano de las glándulas de veneno de las hormigas cortadoras: *Atta laevigata*, *Atta bisphaerica*, *Acromyrmex subterraneus molestans*. Fueron analizados por CG y CG-EM e identificados el 4-metilpirrol-2-carboxilato de metilo y el 3-etil-2,5-dimetilpirazina como los compuestos principales de la feromona de trilla (marcación de camino).

ABSTRACT

The poison gland extract in CH₂Cl₂ of the leaf-cutting ant: *Atta laevigata*, *Atta bisphaerica*, *Acromyrmex subterraneus molestans*. Were analysed and identified by GC and GC-MS. The principal compounds of trail pheromone were the methyl 4-methylpyrrol-2-carboxylate and 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine.

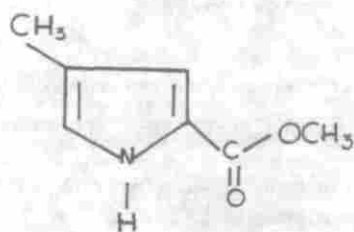
INTRODUCCION

Las hormigas de la tribu Attini utilizan la feromona de trilla (marcación de camino) cuando una fuente de alimento es localizada por una operaria, la cual deja al retornar a la colonia, un camino marcado usando este tipo de feromona, que conducirá a las otras hormigas (operarias) hasta la misma fuente, con objeto de cortar hojas para suministro y mantenimiento del hongo creado en el seno de la colonia y del cual se alimentan.

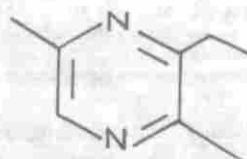
El compuesto 4-metilpirrol-2-carboxilato de metilo (I) fue identificado como el componente mayor de la glándula de veneno en las hormigas *Atta texana* (Buckley) (1,2).

También fue identificado como uno de los componentes de la feromona de marcación de trilla la 3-etil-2,5-dimetilpirazina (II) en las hormigas *Atta sexdens rubropilosa* (Forel) (3).

Se ha demostrado que la glándula de veneno es el sitio donde se localiza la feromona de marcación de camino (4,5,6); encontrándose para algunas especies de hormigas cortadoras como: *Atta cephalotes*, *Acromyrmex octospinosus*, *Atta sexdens sexdens* y *Atta sexdens rubropilosa* contienen: 1,3, 3,3, 0,4 y 0,3 nanogramos respectivamente del compuesto I en esta glándula y que solamente *A. cephalotes*, *A. sexdens sexdens* y *A. sexdens rubropilosa* contienen del compuesto II, 0,2, 4,3 y 3,9 nanogramos respectivamente (6).



I



II

El presente trabajo tuvo como objetivo la identificación de los principales componentes de la feromona de marcación de camino de las especies *Acromyrmex subterraneus molestans* (Santschi), *Atta laevigata* (F. Smith) y *Atta bisphaerica* (Forel), a través de extracción e identificación por ensayos biológicos y cromatografía de gas con columna capilar acoplada a espectrometría de masas.

MATERIALES Y METODOS

2.1. Materiales

2.1.1. Colonias de hormigas

Las colonias de las hormigas de las especies: *A. subterraneus molestans*, *A. laevigata* y *A. bisphaerica*, fueron colectadas en Vicoso, Estado de Minas Gerais (Brasil) y mantenidas en el insectario de la sección de Entomología de la Universidad Federal de Vicoso, sobre condiciones controladas de temperatura (25 °C) y humedad relativa (70 %) y suministrándoles hojas y flores para su forrajeamiento.

2.1.2. Extracción de la Feromona de marcación de camino

20 glándulas de veneno fueron extraídas de los abdómenes de operarias de las especies: *A. laevigata*, *A. bisphaerica* y *A. subterraneus molestans*, después de separar éstos de la cabeza y tórax, y fijados sobre microscopio binocular (60X) utilizando micropinzas, estiletes, evitándose el contacto manual con las mismas. Las glándulas eran depositadas en frascos de fondo cónico, siendo posteriormente sometidos a ultrasonido y macerados con un microbastón de vidrio en 50 µl de CH₂Cl₂.

2.2. Métodos

2.2.1. Cromatografía de Gas

Los extractos así obtenidos, fueron inicialmente analizados por cromatografía de gas en un cromatógrafo VARIAN 3700 (M.R.), equipado con un detector de ionización de llama (FID) acoplado a un procesador-integrador VARIAN 4270 (M.R.). La columna utilizada fue un capilar SE-30 "Cross linked" tipo WCOT de 25 m x 0.20 mm. (d.i.) de silica fundida, con espesor de película de 0.33 μ , en las siguientes condiciones: Gas de arrastre He, 1.0 ml/min., llama, H₂, 30 ml/min y aire sintético, 300 ml/min., razón de "splitter" 1:10, temperatura de la columna 80°C isotérmica por 1 min. y después programada a 5°C/min. hasta la temperatura máxima de 250°C permaneciendo isotérmica por 25 min. Temperatura de inyector: 200°C; temperatura del detector: 280°C, atenuación de 2x10 AxmV.

2.2.2. Cromatografía de Gas acoplada a Espectrometría de Masas

El análisis de los extractos de glándula de veneno de las especies en estudio en el sistema acoplado de cromatografía de gas-espectrometría de masa (C.G./E.M.), se realizaron en un aparato HP-5996A acoplado a un computador HP-1000 (M.R.). Utilizando las mismas condiciones usadas en la cromatografía de gases. Inyectándose un volumen de 0.5 μ l de extracto en forma "On Column" y los espectros de masas fueron realizados por impacto de electrones (E.I./E.M.) a 70 eV. Todos los cromatogramas de la corriente total de iones "TIC" fueron almacenados en el computador para su análisis posterior.

RESULTADOS Y DISCUSION

La tabla 1 muestra los ensayos biológicos de las glándulas aisladas del abdomen de *A. laevigata* y *A. bisphaerica*.

La tabla 2 presenta los resultados de los ensayos biológicos en laboratorio, realizados con los extractos obtenidos del sistema glandular posterior de las hormigas *A. laevigata* y *A. bisphaerica*.

La tabla 3 muestra los ensayos biológicos conducidos con el extracto de la glándula de veneno de la especie *A. subterraneus molestans*.

La Figura 1 muestra el cromatograma de la corriente total de iones (TIC) del extracto de glándula de veneno de *A. laevigata*. De donde se identificaron los compuestos 4-metilpirrol-2-carboxilato de metilo y ácido fenilacético. Se determinó que el compuesto pirrolico es el mayor componente de la glándula de veneno y el principal responsable por la marcación de trilla de esta hormiga.

Este resultado está de acuerdo con el reportado por (7). Este compuesto también ha sido identificado en otras especies del género *Atta*. (1,3,8).

El extracto de la glándula de veneno de *A. bisphaerica*, produjo un cromatogra-

Tabla 1
ENSAYOS BIOLÓGICOS CON GLÁNDULAS AISLADAS DEL
A. laevigata (AL) y *A. bisphaerica* (AB)

Extractos	Vol. en ul de extracto glandular/ensayos	No. de saúvas por ensayos	%o de actividades de trilla (1)	
			AL	AB
Glándula I	20	15	73	80
Glándula II	20	15	40	26
Glándula III	20	15	33	40
I + II	20	15	62	66
I + III	20	15	85	73
II + III	20	15	13	24
I + II + III	20	15	53	53
Líquido abdominal	20	15	60	53

GLÁNDULA I = Glándula de veneno

GLÁNDULA II = Saco retal menos glándulas anexas

GLÁNDULA III = Glándula de la extremidad final del abdomen exclusiva la glándula de veneno.

1/ Los datos constituyen media de 10 repeticiones.

Tabla 2
ENSAYO BIOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS BRUTO (EB); BRUTO MICRODESTILADO (EBMD) Y GLÁNDULAR (EGL) DE LAS HORMIGAS
A. laevigata (AL) y *A. bisphaerica* (AB)

Extractos	Vol. en ul de extracto por ensayo	No. de saúvas por ensayo	%o de actividades de trilla (1)	
			AL	AB
EB (AL)	20	15	53	20
EB (AB)	20	15	40	46
EBMD (AL)	20	15	66	20
EBMD (AB)	20	15	26	60
EGL (AL)	20	15	66	26
EGL (AB)	20	15	20	73
SOLVENTE	20	15	0	0

1/ Los datos constituyen media de 10 repeticiones.

ma de la corriente total de iones (TIC) como se muestra en la Figura 2; a partir del cual se identificaron como los principales componentes de la glándula los compuestos I y II. Sugiriéndose que son los probables compuestos responsables por la trilla marcada de esta especie de hormigas, y siendo la primera vez que éstos son reportados para la misma.

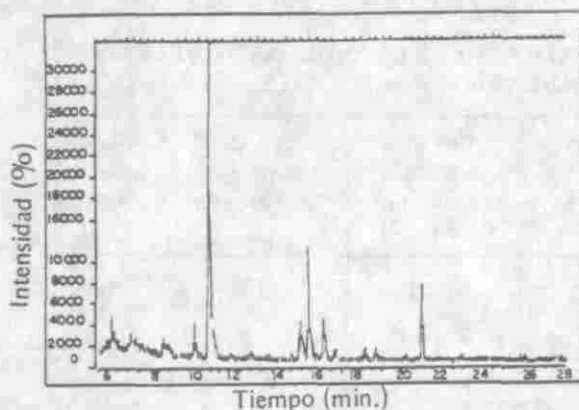


Fig. 1. Cromatograma de la corriente total de iones (TIC), del extracto de glándula de veneno de *Atta Bisphaerica*.

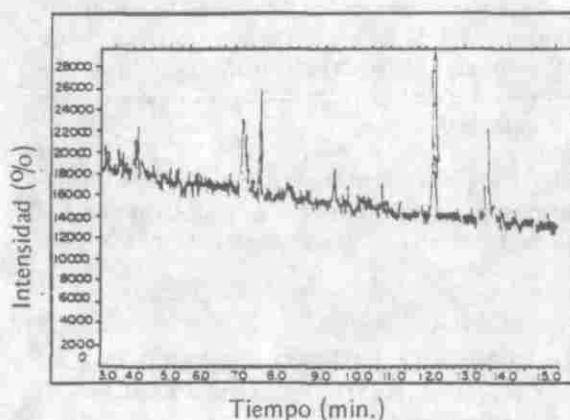


Fig. 2. Cromatograma de la corriente total de iones (TIC), del extracto de glándula de veneno de *Atta Bisphaerica*.

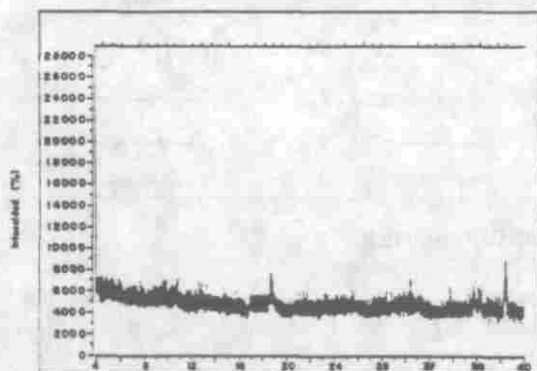


FIG. 3. Cromatograma de la corriente total de iones (TIC), del extracto de la glándula de veneno de *Acromyrmex subterraneus molestans*.

Tabla 3

ENSAYO DE TRILLA DEL EXTRACTO DE GLANDULAS DE VENENO DE
Acromyrmex subterraneus molestans. (ACSU)

Distancia recorrida en el círculo de trilla	Concentración del extracto aplicado en la trilla	Vol. de extracto aplicado por ensayo (ul)	No. de hormigas por ensayo	% de actividad de trillas (1)
1/4	0.4	4	5	100
1/2	0.4	4	5	100
1	0.4	4	5	100

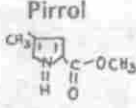
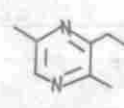
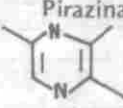
1/ Los datos constituyen media de 20 repeticiones.

También en el extracto de la glándula de veneno de la especie *A. subterraneus molestans* (Figura 3) fue identificado el 4-metilpirrol-2-carboxilato de metilo como uno de los principales componentes de la feromona de marcación de camino de esta especie. La tabla 4 presenta las sustancias identificadas en la glándula de veneno de las especies en estudio, a través de cromatografía de gas y cromatografía de gas acoplada a espectrometría de masas.

El compuesto pirrólico fue común a todas las especies, entre tanto, que la pirazina solo fue detectada a *A. bisphaerica*. Este resultado está de acuerdo a el efecto de intra-especificidad de la feromona de trilla presentado por RILEY et al (9).

Tabla 4

COMPUESTO PRINCIPAL QUE COMPONEN LA FEROMONA DE TRILLA
DE *Acromyrmex subterraneus molestans* (ACSU), *Atta laevigata* (AL) y
Atta bisphaerica (AB).

Compuestos	Pirrol		Pirazinas
Hormigas			
ACSU	++++	_____	_____
AL	++++	_____	_____
AB	+++	+ +	_____

CONCLUSIONES

Se encontró que las sustancias que componen la feromona de marcación de camino están presentes principalmente en la glándula de veneno.

Los resultados muestran que el compuesto 4-metilpirrol-2-carboxilato de metilo (I) se encuentra en la glándula de veneno de las hormigas estudiadas y que tiene

acción de feromona de trilla, en cuanto que la 3-etil-2,5-dimetilpirazina (II), sólo está presente en la especie *A. bisphaerica*, también en la glándula de veneno.

Son necesarios más experimentos para determinar las razones y actividad sinérgica entre los componentes mayores presentes en la feromona de marcación de estas especies.

BIBLIOGRAFIA

1. J.H. TUMLISON, R.M. SILVERSTEIN, J.C. MOSER, R.G. BROWNLEE, J.M. RUTH, *Nature*, 1971, 234, 348.
2. J.H. TUMLISON, J.C. MOSER, R.M. SILVERSTEIN, R.G. BROWNLEE, J.M. RUTH, *Journal of Insect Physiol.* 1972, 18, 809.
3. J.H. CROSS, R.C. BYLER, U. DAVID, R.M. SILVERSTEIN, S.W. ROBINSON, P.M. BAKER, J.S. de OLIVEIRA, A.R. JUTSUM, J.M. CHERRE, *Journal Chemical Ecology*, 1979, 5, 1987.
4. M.S. BLUM, J.C. MOSER, A.D. CORDERO, *Phyche*, 1964, 71, 1.
5. O.M.M. MOSQUERA, J.S. de OLIVEIRA, Determinación de la fuente glandular de la feromona de marcación de trilla en las hormigas cortadoras: *Atta laevigata*, *Atta bisphaerica* y *Acromyrmex subterraneus molestans* (Sin publicar).
6. O.M.M. MOSQUERA, Tesis M. Sc. Vicosá, Universidade Federal de Vicosá, 1988.
7. R.P. EVERSLED, E.D. MORGAN, *Insect Biochem.*, 1983, 13, 469.
8. J.S. De OLIVEIRA, N. CARNIERI, E.F. VILELA, The major component of the position gland of the leaf-cutting out *Atta laevigata*. En: EDER, J.; REMBOLD, H. eds. *Chemistry and Biology of Insects Societis*. Verlag, J. Peperny, Ed. Munchen, Germany; 424, 1987.
9. R.G. RILEY, R.M. SILVERSTEIN, B. CARROLL, R. CARROLL, *J. Insect Physiol.* 1974, 20, 651.
10. S.W. ROBINSON, J.C. MOSER, M.S. BLUM, E. AMANTE, *Insectes Social.* 1974, 24, 87.