



**UNICAMP**

**ADRIANA PIANARO**

**ECOLOGIA QUÍMICA DE *Melipona quadrifasciata*  
LEPELETIER, *Scaptotrigona* aff. *depilis* MOURE E  
*Solenopsis saevissima* SMITH**

**CAMPINAS  
2012**





**UNICAMP**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**ADRIANA PIANARO**

**ECOLOGIA QUÍMICA DE *Melipona quadrifasciata*  
LEPELETIER, *Scaptotrigona aff. depilis* MOURE E *Solenopsis*  
*saevissima* SMITH**

**ORIENTADORA: PROFA. DRA. ANITA JOCELYNE MARSAIOLI**

**TESE DE DOUTORADO APRESENTADA AO  
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA  
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTORA EM CIÊNCIAS.**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA POR  
ADRIANA PIANARO, E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. ANITA JOCELYNE MARSAIOLI.**

---

**Assinatura do Orientador**

**CAMPINAS  
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP

P573e Pianaro, Adriana (1981-).  
Ecologia química de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure e *Solenopsis saevissima* Smith / Adriana Pianaro. – Campinas, SP: [s.n.], 2012.

Orientadora: Anita Jocelyne Marsaioli.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Ecologia química. 2. Abelhas sem ferrão.  
3. Formigas. 4. Feromônios. 5. Alcalóides. I. Marsaioli, Anita Jocelyne. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em inglês:** Chemical ecology of *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure and *Solenopsis saevissima* Smith

**Palavras-chave em inglês:**

Chemical ecology  
Stingless bees  
Ants  
Pheromones  
Alkaloids

**Área de concentração:** Química Orgânica

**Titulação:** Doutora em Ciências

**Banca examinadora:**

Anita Jocelyne Marsaioli [Orientadora]  
Adriana Flach  
Roberto Gomes de Souza Berlinck  
Ljubica Tasic  
Paulo César Muniz de Lacerda Miranda

**Data de defesa:** 12/12/2012

**Programa de pós-graduação:** Química



**“Poís sabemos que todas as coisas trabalham juntas para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles a quem Ele chamou de acordo com o seu plano.”**

*Romanos, capítulo 8, versículo 28;  
Bíblia Sagrada - NTLH*

**“Portanto, não tenham medo de ninguém. Tudo que está coberto vai ser descoberto e tudo o que está escondido será conhecido.”**

*Mateus, capítulo 10, versículo 26;  
Bíblia Sagrada - NTLH*

**“As pessoas podem fazer seus planos, porém é o Senhor Deus quem dá a última palavra.”**

*Provérbios, capítulo 16, versículo 1;  
Bíblia Sagrada - NTLH*



**DEDICATÓRIA:**  
*Ao meu amado Senhor Jesus Cristo;*  
*A minha mãe Malta;*  
*A meu pai Alceu (in memoriam);*  
*As minhas irmãs Valéria e Priscila;*  
*E ao meu querido marido Márcio.*



## AGRADECIMENTOS

Sempre serei grata a Deus por ter me dado à vida e pelo envio destas duas pessoas que amo muito, meu Senhor Jesus Cristo e meu amigo Espírito Santo. Se eu não tivesse encontrado com vocês durante esta fase da minha vida, com certeza, não teria conseguido finalizar esta tese de doutorado. Os desafios pessoais foram muitos, mas a vitória veio, graças a Deus!

Agradeço à minha orientadora, Profa. Dra. Anita J. Marsaioli, que me ensinou mais do que química durante estes oito anos de convivência (mestrado e doutorado). Quero deixar aqui registrado, meu carinho e admiração por esta grande cientista.

Agradeço à minha mãe Malta que zelou por mim desde a infância e até hoje me socorre nos momentos difíceis. Sua luta, mãe, em incentivar minhas irmãs e eu a estudar, toda sua batalha desde a época que morávamos no sítio para irmos à escola e não faltar em nenhuma aula, valeu a pena! Muito obrigada por tudo! Mulher batalhadora e fiel a Deus que amo muito.

Agradeço às minhas irmãs, Valéria e Priscila, pela ajuda, o carinho e o amor dado a mim durante toda minha vida.

Agradeço ao meu amado marido, Márcio, que é um presente dado por Deus nestes últimos três anos. Amo muito você, meu marido!

Agradeço a todos meus colegas de bancada e técnicos do nosso laboratório, especialmente, a Diana, a Fabiana, a Francine, o Haleem, o Raphael, o Lucas, o Célio, a Carla, a Dani, a Bruna, a Lair, o Thiago, o Felipe, a Carol, a Dávila, o Marcelo, a Simone e a Dona Maria.

Agradeço aos meus colaboradores, Dr. Cristiano Menezes, MSc. Ayrton Vollet Neto, Profa. Dra. Vera Lúcia Imperatriz-Fonseca, Dr. Eduardo G. P.

Fox e Prof. Dr. Odair C. Bueno, sem vocês estes trabalhos nunca teriam sido realizados. Obrigada pela confiança e amizade!

Agradeço aos alunos de iniciação científica que monitorei durante o doutorado, o André, a Cintia, a Giédre e o Raphael. Minha incumbência era ensinar e ajudar vocês no laboratório, mas o que recebi em troca não tem preço, além da experiência, a amizade de cada um.

Agradeço à Diana e à Lili por me acolher em sua casa em um momento difícil e por toda ajuda, amor e carinho dedicados a mim e ao meu marido.

Agradeço a esses dois casais de amigos muito especiais: Sandro/Juliana e Sílvio/Francine pela amizade, o carinho e a ajuda durante o doutorado.

Agradeço aos meus pastores, Paulo, Valéria, Marcos e Day, pela força, carinho, amor e ensinamentos da Palavra de Deus.

Agradeço aos meus amigos, que são como irmãos para mim, a Mariluci, o Geraldo, a Diana, a Fabiana, a Lili, a Malú, a Valéria, a Dona Maria (mãe da Valéria), a Kátia, o Rogério, a Sandra, a Célia, o Marcelo, a Rúbia, o Eliel, a Celeste, o Cristian, a Jana, o Paulo, o Silvano e a Fran.

Agradeço a todos os técnicos e professores do Instituto de Química pelo incentivo, ensino e ajuda que colaboraram para minha formação e conclusão desta tese de doutorado.

Agradeço a todos os membros da banca examinadora pela presença e correção da tese.

Agradeço ao Instituto de Química que me acolheu durante todos estes anos.

Agradeço à CAPES pela minha bolsa de doutorado.

Deus abençoe a todos! Muito obrigada!

Adriana Pianaro.

# Curriculum Vitae: Adriana Pianaro

## 1. Formação Acadêmica

**1.1. Graduação em Química (bacharelado).** Universidade Estadual de Londrina - UEL, Londrina /PR – Brasil (2000-2004). Título da monografia: Constituintes Químicos das Cascas das Raízes de *Spathodea campanulata* P. Beauv. (Bignoniaceae). Orientadora: Profa. Dra. Dalva Trevisan Ferreira. Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

**1.2. Mestrado em Química Orgânica.** Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas/SP – Brasil (2004-2007). Título da dissertação: Ecologia Química de Abelhas Brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides*. Orientadora: Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli. Bolsista da: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Nº Processo: 03/09358-3).

**1.3. Doutorado em Química Orgânica.** Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas/SP – Brasil (2007-2012). Título da tese: Ecologia Química de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure e *Solenopsis saevissima* Smith. Orientadora: Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli. Bolsista da: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

## 2. Artigos Publicados

**2.1.** Pianaro, A.; Pinto, J. P.; Ferreira, D. T.; Ishikawa, N. K.; Braz-Filho, R. Iridoid glucoside and antifungal phenolic compounds from *Spathodea campanulata* roots. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, p. 251-256, 2007.

**2.2.** Pianaro, A. ; Flach, A.; Patricio, E. F. L. R. A.; Nogueira-Neto, P.; Marsaioli, A. J. Chemical changes associated with the invasion of a *Melipona scutellaris* colony by *Melipona rufiventris* workers. **Journal of Chemical Ecology**, v. 33, p. 971-984, 2007.

**2.3.** Pianaro, A.; Menezes, C.; Kerr, W. E.; Singer, R. B.; Patricio, E. F. L. R. A.; Marsaioli, A. J. Stingless Bees: Chemical Differences and Potential Functions in *Nannotrigona testaceicornis* and *Plebeia droryana* Males and Workers. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 1117-1128, 2009.

**2.4.** Fox, E. G. P.; Pianaro, A.; Solis, D. R.; Delabie, J. H. C.; Vairo, B. C.; Machado, E. A.; Bueno, O. C. Intraspecific and intracolony variation in the profile of venom alkaloids and cuticular hydrocarbons of the fire ant *Solenopsis saevissima* Smith (Hymenoptera: Formicidae). **Psyche: A Journal of Entomology**, v. 2012, p. 1-10, 2012.

**2.5.** Pianaro, A.; Fox, E. G. P.; Bueno, O. C.; Marsaioli, A. J. Rapid configuration analysis of the solenopsins. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 23, 635-642, 2012.

### **3. Monitorias**

**3.1. Extensão universitária**, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP (01/2006 a 02/2006). Participação na 4<sup>a</sup>. Edição do Programa "Ciência & Arte nas Férias", promovida pela Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, realizando atividades de monitoria junto ao Projeto: "USO DE PARABENOS COMO CONTROLE POSITIVO EM BIOENSAIOS ANTIFÚNGICOS". Orientação: Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli. Local: Bloco A5, laboratório 103. Instituição Financiadora: Fundo de Apoio ao Ensino, à Pesquisa e à Extensão – FAEPEX (Convênio N° 519.292, solicitação: 842/2005).

**3.2. Programa de Estágio Docente**, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP (08/2008 a 12/2008). Participou do Programa de Estágio Docente - PED, no Grupo C - Atividades de Apoio à Docência Parcial, junto a duas turmas (QO521-turma A e QO521-turma B) da disciplina de Química Orgânica II, sob supervisão da Profa. Dra. Lúcia Helena Brito Baptistella do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas-SP.

**3.3. Monitora de Iniciação Científica do aluno André Médici** (bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) no período 02/2007 a 12/2007. Orientação: Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli. Local: Instituto de Química, UNICAMP, Bloco A5, Laboratório 103.

**3.4. Monitora de Iniciação Científica da aluna Cintia Maruiama** (bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) no período 01/2008 a 08/2009. Orientação: Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli. Local: Instituto de Química, UNICAMP, Bloco A5, Laboratório 103.

**3.5. Monitora de Iniciação Científica da aluna Giédre Marson** (bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) no período 02/2008 a 12/2009. Orientação: Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli. Local: Instituto de Química, UNICAMP, Bloco A5, Laboratório 103.

**3.6. Monitora de Iniciação Científica do aluno Raphael Pedro Ricci** (bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) no período de 02/2009 a 07/2011. Orientação: Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli. Local: Instituto de Química, UNICAMP, Bloco A5, Laboratório 103.

### **4. Outros**

**4.1.** Participou de 26 congressos e eventos. Apresentou 22 trabalhos em forma de painel ou oralmente. Outras informações acessem os sites:

Currículo Lattes: <http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/busca.do>

Site do grupo de pesquisa da Profa. Anita: <http://anita.iqm.unicamp.br>

## RESUMO

### **Ecologia Química de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, *Scaptotrigona aff. depilis* Moure e *Solenopsis saevissima* Smith**

*MSc. Adriana Pianaro e Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli*

Este trabalho teve como objetivo a comunicação química em insetos sociais e em particular de abelhas sem ferrão e formigas lava-pés brasileiras. Portanto, estes dois tópicos foram abordados em dois capítulos distintos e revelaram que:

(1) As rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdômes inflados liberam uma mistura de nerol/geraniol na razão 1:2, respectivamente, pelas glândulas terçais. Estes monoterpenos indicam o nível de maturidade destas rainhas e podem estar envolvidos na seleção de uma nova rainha. Rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* atraem machos e a partir da descoberta deste fenômeno iniciou-se a procura dos compostos responsáveis pela atração sexual. As análises dos extratos epicuticulares, extratos abdominais, glândulas de Dufour e glândulas terçais das rainhas fisogástricas e virgens de *S. aff. depilis* revelaram ésteres no extrato das rainhas fisogástricas. Os testes de campo com os extratos, as frações dos compostos isolados de rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* e padrões sintéticos revelaram que os extratos epicuticulares das rainhas fisogástricas atraem e estimulam a cópula dos machos quando adsorvidos sobre feltro preto. As frações e os padrões não produziram nenhuma resposta. A presença de 2-alcanóis nos extratos cefálicos de rainhas de *M. quadrifasciata* e *S. aff. depilis* e machos de *N. testaceicornis* estimulou a realização de testes de campo com 2-alcanóis, os quais demonstraram que o (*S*)-(+)-2-heptanol e a mistura (*S*)-(+)-2-heptanol/ (*S*)-(+)-2-nonanol (1:1) atraem operárias de *P. droryana*, *N. testaceicornis* e *F. silvestrii*, sugerindo ser um feromônio de recrutamento de operárias e envolvidos na formação de leques de machos.

(2) A análise dos alcalóides dos venenos de operárias e rainhas de *S. saevissima* revelou diferenças na composição química intra e inter-nidal de duas regiões diferentes do Brasil (São Paulo e Rio de Janeiro). Uma metodologia para acesso rápido das configurações relativas e absolutas dos alcalóides piperidínicos do veneno das formigas lava-pés foi elaborada empregando CG-EM e CG-DIC com coluna capilar quiral Chrompack CP-chirasil-Dex CB e derivados trifluoroacetamidas e acetamidas dos alcalóides piperidínicos sintéticos e naturais, onde se verificou pela primeira vez a presença dos quatro estereoisômeros da 2-metil-6-undecilpiperidina em venenos de formigas lava-pés.



## ABSTRACT

### **Chemical Ecology of *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, *Scaptotrigona aff. depilis* Moure and *Solenopsis saevissima* Smith**

*MSc. Adriana Pianaro and Prof. Dr. Anita Jocelyne Marsaioli*

The aim of this thesis is the chemical communication of social insects and in particular of Brazilian stingless bees and fire ants. Therefore, the results obtained in these two topics are presented in two chapters as follows:

(1) Virgin queens of *M. quadrifasciata* (stingless bee) with inflated abdomens release a mixture of nerol/ geraniol in 1:2 ratio, respectively, by tergal glands. These monoterpenes are related to the development of these queens and may be involved in the new queen selection. *S. aff. depilis* physogastric queens attract drones and this observation oriented the research to sexual pheromones. The analysis of the epicuticular, abdominal, Dufour's gland, and tergal gland extracts of *S. aff. depilis* from physogastric and virgin queens revealed the outstanding presence of esters in the epicuticular extracts of physogastric queens. Field tests with extracts, isolated compound fractions of *S. aff. depilis* physogastric queens and synthetic standards revealed that physogastric queen epicuticular extracts attract and stimulate mating of drones when adsorbed on black felt. The fractions and standards produced no response. The presence of 2-alkanols in cephalic extracts of *M. quadrifasciata* and *S. aff. depilis* queens and *N. testaceicornis* drones stimulated field tests with 2-alkanols, which showed that the (*S*)-(+)-2-heptanol and the mixture of (*S*)-(+)-2-heptanol/ (*S*)-(+)-2-nonanol (1:1) attract workers of *P. droryana*, *N. testaceicornis* and *F. silvestrii*. This biological response is consistent with worker recruit pheromones, involved in the formation of drone swarms.

(2) Analysis of the venom alkaloids of *S. saevissima* workers and queens revealed differences in the intra and internidal chemical composition of fire ants from two different regions in Brazil (Sao Paulo and Rio de Janeiro). A methodology to rapidly access the relative and absolute configurations of the piperidinic alkaloids from the fire ant venom was developed using GC-MS and GC-FID with a chiral capillary column (Chrompack CP-chirasil-Dex CB) and trifluoroacetamides and acetamides of synthetic and natural piperidinic alkaloids. This methodology was applied to the analysis of 2-methyl-6-undecylpiperidine of *S. saevissima* gynes and worker venoms from Ubatuba-SP and Pedro do Rio-RJ revealing for the first time the presence of four stereoisomers of 2-methyl-6-undecylpiperidine in the fire ant venoms.



# ÍNDICE GERAL

<b>1. Introdução.....</b>	<b>3</b>
1.1. Comunicação química .....	3
1.2. As abelhas .....	8
1.2.1. Comunicação química das abelhas sem ferrão .....	14
1.3. As formigas.....	22
1.3.1. Formigas do gênero <i>Solenopsis</i> .....	24
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>37</b>
<b>3. Capítulo 1 – Comunicação química das abelhas sem ferrão <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier e <i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i> Moure (Hymenoptera: Apidae) .....</b>	<b>41</b>
3.1. Compostos voláteis das rainhas virgens da abelha sem ferrão <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier (Hymenoptera: Apidae).....	41
3.1.1. Resultados e discussão .....	42
3.2. Compostos voláteis das rainhas virgens <i>in vitro</i> , rainhas fisogástricas e machos da abelha sem ferrão <i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i> Moure (Hymenoptera: Apidae) .....	57
3.2.1. Resultados e discussão .....	60
3.3. Testes preliminares de campo.....	84
3.3.1. Resultados e discussão .....	85
3.4. Conclusões parciais .....	90
<b>4. Capítulo 2 - Composição química do veneno de operárias e rainhas das formigas “lava-pés” <i>Solenopsis saevissima</i> Smith (Hymenoptera: Formicidae) e a variação de estereoisômeros das solenopsinas e isosolenopsinas.....</b>	<b>95</b>
4.1. Composição química do veneno de operárias e rainhas das formigas “lava-pés” <i>Solenopsis saevissima</i> Smith .....	95
4.1.1. Resultados e discussão .....	95
4.2. Variação de estereoisômeros das solenopsinas e isosolenopsinas do veneno de formigas “lava-pés” <i>Solenopsis saevissima</i> Smith.....	102
4.2.1. Resultados e discussão .....	103
4.2. Conclusões parciais .....	111
<b>5. Conclusões finais e perspectivas futuras .....</b>	<b>115</b>
<b>8. Parte experimental .....</b>	<b>119</b>
8.1. Equipamentos e métodos .....	119

8.2. Solventes, reagentes, padrões e materiais.....	125
8.3. Índices de retenção.....	128
8.4. Determinação da posição da dupla ligação.....	128
8.5. Abelhas sem ferrão .....	129
8.5.1. Abelha sem ferrão <i>Melipona quadrifasciata</i> .....	129
8.5.1.1. <i>Headspace</i> dinâmico das rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> .....	129
8.5.1.2. Extratos dos hidrocarbonetos cuticulares, cefálicos, abdominais, das glândulas terçais e da glândula de Dufour das rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> .....	131
8.5.1.3. Quantificação relativa da mistura nerol/geraniol das rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> .....	132
8.5.2. Extratos epicuticulares, cefálicos, das secreções anais, das glândulas terçais e da glândula de Dufour da abelha sem ferrão <i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i> .....	133
8.5.2.1. Separação das classes de compostos do extrato epicuticular de rainhas fisogástricas de <i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i> .....	134
8.5.2.2. Testes de campo preliminares com as abelhas sem ferrão .....	135
8.6. Formigas lava-pés <i>Solenopsis saevissima</i> .....	138
8.6.1. Alcalóides do veneno de <i>Solenopsis saevissima</i> .....	138
8.6.1.1. Isolamento das <i>cis</i> - e <i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidinas naturais .....	139
8.6.1.2. Hidrocloretos dos alcalóides naturais de <i>Solenopsis saevissima</i> .....	140
8.6.2. Sínteses de padrões dos alcalóides piperidínicos .....	142
8.6.2.1. Tosilação dos <i>n</i> -álcoois .....	142
8.6.2.2. Sínteses das 2-metil-6-alkuilpiridinas .....	145
8.6.2.3. Sínteses das 2-metil-6-alkuilpiperidinas .....	148
8.6.2.4. Trifluoracetilação dos alcalóides.....	151
8.6.2.5. Acilação de Schotten-Baumann dos alcalóides .....	152
<b>9. Referências bibliográficas .....</b>	<b>157</b>
<b>10. Anexos.....</b>	<b>175</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Terminologia de infoquímicos. ....3
- Figura 2.** Bombicol, feromônio sexual da mariposa fêmea do bicho-da-seda *Bombyx mori* Linnaeus. Figura retirada de Sarah (2012). ....6
- Figura 3.** Principais glândulas exócrinas nos insetos sociais. Figura modificada de Billen (2006). ....7
- Figura 4.** (A) Vista lateral de rainha virgem de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier; (B) rainha fisogástrica de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier; e (C) rainha fisogástrica de *Tetragonisca angustula* Latreille. Figuras retiradas de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (2010) e rainhas no favo (2010). ....10
- Figura 5.** Desenhos baseados em fotografias da execução de rainhas virgens por operárias em *Melipona beecheii* Bennett: (A) procedimento de decaptação realizado por uma operária que assume uma posição por trás da rainha virgem, removendo sua cabeça com as mandíbulas; e (B) pequeno grupo de operárias puxando as extremidades da rainha virgem. Figuras retiradas e modificadas de Wenseleers *et al.* (2004). ....11
- Figura 6.** Aglomeração de machos de *Scaptotrigona aff. depilis* Moure ao lado da entrada do ninho. Foto: Adriana Pianaro. ....13
- Figura 7.** Fotos das diferentes castas de *Melipona rufiventris* Lepeletier: (A) vista lateral de uma operária; (B) vista lateral da perna posterior da operária, em destaque a corbícula; (C) vista lateral do macho; e (D) rainha fisogástrica. Figuras retiradas de *Melipona rufiventris* Lepeletier (2012) e rainhas no favo (2010). ....14
- Figura 8.** Compostos voláteis identificados em abelhas sem ferrão. As estruturas dos compostos estão coloridas de acordo com a cor que representa a glândula onde foram localizados. Figura de uma abelha modificada de Billen (2006). ....15
- Figura 9.** (A) Operária forrageira de *Trigona recursa* Smith depositando marca de cheiro em uma folha; (B) glândulas labiais de operária forrageira de *Trigona recursa* Smith; (C) cromatograma de íons do extrato das glândulas labiais de operárias forrageiras de *Trigona recursa* Smith, em destaque o decanoato de hexila; e (D) cromatogramas de CG-DIC e CG-EM dos extratos das glândulas labiais de *Trigona spinipis* Fabricius, em destaque o octanoato de octila. Figuras modificadas de Jarau *et al.* (2006) e Schorkopf *et al.* (2007). ....19
- Figura 10.** Cromatograma de ionização em chama (DIC) do extrato das glândulas labiais de operárias forrageiras de *Trigona corvina* Cockerell e

simultaneamente a obtenção das respostas dos quimiorreceptores da antena de uma operária do mesmo ninho por detecção eletroantegráfica (DEA). Os nomes dos compostos ativos fisiologicamente são colocados no cromatograma. <i>ui</i> = composto não identificado. Figura modificada de Jarau <i>et al.</i> (2010a). .....	21
<b>Figura 11.</b> Polimorfismo de uma colônia poligínica da formiga <i>Solenopsis invicta</i> Buren, em destaque ao lado esquerdo as rainhas múltiplas do ninho. A circunferência demonstra a variação do tamanho das operárias. Figura retirada de Araujo e Tschinkel (2010). .....	23
<b>Figura 12.</b> O ferrão e a secreção de veneno de uma operária da formiga <i>Solenopsis invicta</i> Buren. Figura retirada de Deslippe e Guo (2000). .....	25
<b>Figura 13.</b> Alcalóides piperidínicos das formigas <i>Solenopsis</i> . Figura modificada de Chen <i>et al.</i> (2009a). .....	30
<b>Figura 14.</b> (A) Rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier, com 1 dia após emergência, sem inflar o abdome; (B) rainhas virgens, com 2 a 3 dias após emergência, alongando os abdomes com auxílio das patas traseiras e (C) com os abdomes inflados. Fotos: Adriana Pianaro.....	41
<b>Figura 15.</b> Cromatogramas de íons: (A) controle – entrada de ar do sistema; (B) rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier, com 2 a 3 dias após emergência e com abdomes totalmente inflados; e (C) rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier, com 1 dia após emergência e que não inflavam o abdome. *Compostos contaminantes da borracha de ligação dos tubos de Porapak Q ao sistema (bifalatos). ....	43
<b>Figura 16.</b> Cromatogramas de íons dos (A) extratos cefálicos e dos (B) extratos abdominais das rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier com abdomes inflados. Em destaque o 2-heptanol, o nerol, o geraniol, os hidrocarbonetos majoritários (C25:1, C25, C27:1, C27, C29:1 e C29) e outros compostos. *Terpeno desconhecido. ....	45
<b>Figura 17.</b> Configuração absoluta do 2-heptanol dos extratos cefálicos das rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier com abdomes inflados (2-3 dias após emergência) determinada por CG-DIC com a coluna quiral Lipodex-E (28 m x 0,25mm x 0,25 $\mu$ m): (A) ( $\pm$ )-2-heptanol comercial; (B) ( <i>S</i> )-2-heptanol comercial; (C) mistura 2:1 do ( $\pm$ )-2-heptanol e do ( <i>S</i> )-2-heptanol comerciais, respectivamente; (D) 2-heptanol dos extratos cefálicos; e (E) mistura 4:1 do 2-heptanol dos extratos cefálicos e do ( $\pm$ )-2-heptanol comercial, respectivamente.....	52
<b>Figura 18.</b> Espectros de massas do (A) terpeno desconhecido das rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier e do (B) <i>E,E</i> -farnesol ( $M^+$ 222), obtido da biblioteca Wiley275 do CG-EM .....	53

- Figura 19.** Cromatogramas de íons das (A) glândula de Dufour, (B) hidrocarbonetos epicuticulares e (C) glândulas tergaais das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier com abdômes inflados. Em destaque o nerol, o geraniol e os hidrocarbonetos majoritários (C23, C25:1, C25, C27:1, C27 e C29:1). .....54
- Figura 20.** Testes de atratividade de rainhas de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure em laboratório: (A) e (B) placas de criação *in vitro* de rainhas; (C) rainha virgem *in vitro*; (D) placas de petri com machos; (E) rainha fisogástrica; (F) aglomerado de machos em cima de uma rainha fisogástrica; (G) acasalamento de uma rainha RVIVA com macho. Fotos gentilmente cedidas pelo Dr. Cristiano Menezes. ....59
- Figura 21.** Cromatogramas de íons do extrato epicuticular: (A) do macho, (B) da rainha virgem *in vitro*, (C) da rainha fisogástrica e (D) da rainha RVIVA de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure. Em destaque alguns hidrocarbonetos (C23:1, C23, C25:1, C25, C26, C27:1, C27, C29:1, C29, C31:1 e C31) e ésteres. \*Undecano: padrão interno. ....61
- Figura 22.** Cromatograma de íons do extrato das secreções anais das rainhas fisogástricas de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure. Em destaque alguns hidrocarbonetos (C23:1, C23, C25:1, C25, C27:1, C27, C29:1 e C29) e ésteres. ....62
- Figura 23.** Cromatogramas de íons das glândulas tergaais (A) da rainha fisogástrica, (B) da rainha virgem *in vitro* e (C) da rainha RVIVA de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure. Em destaque alguns hidrocarbonetos (C23:1, C23, C25:1, C25, C27:1, C27, C29:1, C29, C31:1 e C31) e ésteres. \*Undecano: padrão interno. ....72
- Figura 24.** Cromatogramas de íons da glândula de Dufour (A) da rainha fisogástrica, (B) da rainha virgem *in vitro* e (C) da rainha RVIVA de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure. \*Undecano: padrão interno. ....73
- Figura 25.** Cromatogramas de íons dos extratos cefálicos (A) de macho, (B) de rainha virgem *in vitro*, (C) de rainha RVIVA e (D) de rainha fisogástrica de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure. \*Undecano: padrão interno. ....78
- Figura 26.** Configuração absoluta do 2-heptanol dos extratos cefálicos das rainhas virgens de *S.* aff. *depilis* Moure determinada por CG-DIC com a coluna quiral Lipodex-E (28 m x 0,25mm x 0,25  $\mu$ m): (A) ( $\pm$ )-2-heptanol comercial; (B) (*S*)-2-heptanol comercial; (C) mistura (2:1) do ( $\pm$ )-2-heptanol e do (*S*)-2-heptanol comerciais; (D) 2-heptanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens; e (E) mistura (4:1) do 2-heptanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens e ( $\pm$ )-2-heptanol comercial. ....81

- Figura 27.** Configuração absoluta do 2-nonanol dos extratos cefálicos das rainhas virgens de *S. aff. depilis* Moure determinada por CG-DIC com a coluna quiral Chrompack CP-Chirasil-Dex CB (25 m x 0,25mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ): (A) ( $\pm$ )-2-nonanol comercial; (B) (*S*)-2-nonanol comercial; (C) mistura (2:1) do ( $\pm$ )-2-nonanol e do (*S*)-2-nonanol comerciais; (D) 2-nonanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens; e (E) mistura (4:1) do 2-nonanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens e ( $\pm$ )-2-nonanol comercial. ....82
- Figura 28.** Configuração absoluta do 2-undecanol dos extratos cefálicos das rainhas virgens de *S. aff. depilis* Moure determinada por CG-DIC com a coluna quiral Chrompack CP-Chirasil-Dex CB (25 m x 0,25mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ): (A) ( $\pm$ )-2-undecanol comercial; (B) 2-undecanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens; e (C) mistura (4:1) do 2-undecanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens e ( $\pm$ )-2-undecanol comercial. ....83
- Figura 29.** Local dos ninhos das abelhas sem ferrão do teste de campo com os 2-alcanóis. Foto: Adriana Pianaro. ....85
- Figura 30.** (A) Local dos testes de atratividade, em destaque vários ninhos de *Scaptotrigona aff. depilis* Moure; (B) teste a curta distância (apresentando o composto ao aglomerado de machos) e (C) teste a longa distância (em varal). Em destaque o aglomerado de machos e as fitas de papel de filtro com os compostos e extratos testados. Fotos: Adriana Pianaro. ....87
- Figura 31.** (A) Machos de *Scaptotrigona aff. depilis* Moure atraídos pelo pedaço de feltro preto com o extrato epicuticular das rainhas fisogástricas, cobrindo-o totalmente, e (B) copulando com o feltro mesmo após 2 min de observação. Fotos: Ayrton Vollet Neto. ....90
- Figura 32.** Separações quirais por CG-DIC (coluna quiral Chrompack CP-chirasil-Dex CB; 25 m x 0,25mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ) das (A) trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (A-D); (B) trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas (A-D); (C) trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas (A-D); (D) acetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (A-D); (E) acetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas (A-D); e (F) acetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas (A-D). Obs.: Os isômeros *cis* são os picos maiores em todos os cromatogramas que eluem depois dos isômeros *trans*. ....106
- Figura 33.** Cromatogramas de CG quiral (coluna quiral Chrompack CP-chirasil-Dex CB) para discriminação dos picos dos dois pares de enantiômeros das trifluoroacetamidas da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas: (A) mistura racêmica sintética; (B) padrão (2*R*,6*R*)-2-

metil-6-undecilpiperidina isolado; (C) co-injeção da mistura racêmica com o padrão (2*R*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina; (D) padrão (2*R*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina isolado; e (E) co-injeção da mistura racêmica com o padrão (2*R*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina. .... 108

**Figura 34.** Cromatogramas de íons das trifluoroacetamidas da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (coluna quiral Chrompack CP-chirasil-Dex CB, no modo de extração de íons: *m/z* 194): (A) mistura racêmica; (B) alcalóides do veneno das rainhas de *S. saevissima* Smith de Pedro do Rio-RJ; e (C) alcalóides do veneno das operárias pequenas de *S. saevissima* Smith de Ubatuba-SP. .... 110

**Figura 35.** Coleta dos compostos voláteis das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier utilizando a técnica “*headspace*” dinâmico com emprego de uma bomba de vácuo. Fotos: Adriana Pianaro..... 130



## ÍNDICE DE FIGURAS DOS ANEXOS

<b>Figura A1.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 5-heptacoseno. ....	175
<b>Figura A2.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 7-pentacoseno. ....	175
<b>Figura A3.</b> Espectro de massas (70 eV) da co-eluição dos derivados DMDS do 7-heptacoseno e do 9-heptacoseno (mesmo íon molecular $M^+$ 472). ....	175
<b>Figura A4.</b> Espectro de massas (70 eV) da co-eluição dos derivados DMDS do 7-nonacoseno e do 9-nonacoseno (mesmo íon molecular $M^+$ 500)... ..	175
<b>Figura A5.</b> Espectro de massas (70 eV) da co-eluição dos derivados DMDS do 9-heptacoseno, 10-heptacoseno, 11-heptacoseno, 12-heptacoseno e 13-heptacoseno (mesmo íon molecular $M^+$ 472). ....	176
<b>Figura A6.</b> Espectro de massas (70 eV) da co-eluição dos derivados DMDS do 9-nonacoseno, 10-nonacoseno, 11-nonacoseno, 12-nonacoseno, 13-nonacoseno e 14-nonacoseno (mesmo íon molecular $M^+$ 500). ....	177
<b>Figura A7.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-heneicoseno. ....	177
<b>Figura A8.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-docoseno. ....	178
<b>Figura A9.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-tricoseno. ....	178
<b>Figura A10.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-tetracoseno. ....	178
<b>Figura A11.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-pentacoseno. ....	178
<b>Figura A12.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-hexacoseno. ....	179
<b>Figura A13.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-heptacoseno. ....	179
<b>Figura A14.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-nonacoseno. ....	179
<b>Figura A15.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-hentriaconteno. ....	179
<b>Figura A16.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do acetato de 5-tetradecenila e as fragmentações propostas de acordo com Buser <i>et al.</i> , 1983. ....	180

<b>Figura A17.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do acetato de 7-hexadecenila e as fragmentações propostas de acordo com Buser <i>et al.</i> , 1983. ....	181
<b>Figura A18.</b> Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do acetato de 9-hexadecenila e as fragmentações propostas de acordo com Buser <i>et al.</i> , 1983. ....	182
<b>Figura A19.</b> Espectro de massas (70 eV) do tosilato de decila.....	183
<b>Figura A20.</b> Espectro no infravermelho do tosilato de decila. ....	183
<b>Figura A21.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (499,88 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de decila.....	183
<b>Figura A22.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (125,71 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de decila: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90. ....	184
<b>Figura A23.</b> Espectro de massas (70 eV) do tosilato de dodecila.....	185
<b>Figura A24.</b> Espectro no infravermelho do tosilato de dodecila. ....	185
<b>Figura A25.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (499,88 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de dodecila.....	185
<b>Figura A26.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (125,71 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de dodecila: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90. ....	186
<b>Figura A27.</b> Espectro de massas (70 eV) do tosilato de tetradecila. ....	187
<b>Figura A28.</b> Espectro no infravermelho do tosilato de tetradecila. ....	187
<b>Figura A29.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (499,88 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de tetradecila.....	187
<b>Figura A30.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (125,71 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de tetradecila: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.....	188
<b>Figura A31.</b> Espectro de massas (70 eV) da 2-metil-6-undecilpiridina. ....	189
<b>Figura A32.</b> Espectro no infravermelho da 2-metil-6-undecilpiridina. ....	189
<b>Figura A33.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (499,88 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-undecilpiridina. ....	189
<b>Figura A34.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (62,89 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-undecilpiridina: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.....	190
<b>Figura A35.</b> Espectro de massas (70 eV) da 2-metil-6-tridecilpiridina.....	191
<b>Figura A36.</b> Espectro no infravermelho da 2-metil-6-tridecilpiridina.....	191
<b>Figura A37.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-tridecilpiridina. ....	191

<b>Figura A38.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (100,61 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-tridecilveridina: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.....	192
<b>Figura A39.</b> Espectro de massas (70 eV) da 2-metil-6-pentadecilveridina...	193
<b>Figura A40.</b> Espectro no infravermelho da 2-metil-6-pentadecilveridina. ...	193
<b>Figura A41.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-pentadecilveridina.....	193
<b>Figura A42.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (100,61 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-pentadecilveridina: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.....	194
<b>Figura A43.</b> Espectro de massas (70 eV) da ( $\pm$ )- <i>cis</i> -2-metil-6-undecilveridina, mesmo espectro de massas para a ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-undecilveridina. ....	195
<b>Figura A44.</b> Espectro no infravermelho da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-undecilveridinas. ....	195
<b>Figura A45.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (499,87 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-undecilveridinas.....	195
<b>Figura A46.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (125,69 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-undecilveridinas: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90. ....	196
<b>Figura A47.</b> Espectro de massas (70 eV) da ( $\pm$ )- <i>cis</i> -2-metil-6-tridecilveridina, mesmo espectro de massas para a ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-tridecilveridina. ....	197
<b>Figura A48.</b> Espectro no infravermelho da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-tridecilveridinas.....	197
<b>Figura A49.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (250,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-tridecilveridinas.....	197
<b>Figura A50.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (62,89 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-tridecilveridinas: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90. ....	198
<b>Figura A51.</b> Espectro de massas (70 eV) da ( $\pm$ )- <i>cis</i> -2-metil-6-pentadecilveridina, mesmo espectro de massas para a ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-pentadecilveridina.....	199
<b>Figura A52.</b> Espectro no infravermelho da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-pentadecilveridinas.....	199
<b>Figura A53.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (250,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - ou ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-pentadecilveridinas.....	199
<b>Figura A54.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (62,89 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-pentadecilveridinas: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90. ....	200

<b>Figura A55.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (499,88 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da <i>cis</i> - e <i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidinas do veneno das rainhas de <i>Solenopsis saevissima</i> do ninho 3. ....	201
<b>Figura A56.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (499,88 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da <i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidina do veneno das operárias pequenas de <i>Solenopsis saevissima</i> do ninho 3. ....	201
<b>Figura A57.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (125,71 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da <i>cis</i> - e <i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidinas do veneno das rainhas de <i>Solenopsis saevissima</i> do ninho 3: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.....	202
<b>Figura A58.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (125,71 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) da <i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidina do veneno das operárias pequenas de <i>Solenopsis saevissima</i> do ninho 3: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.....	203
<b>Figura A59.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (499,87 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) do hidrocloreto da (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i> )-2-metil-6-undecilpiperidina isolada do veneno das rainhas de <i>Solenopsis saevissima</i> dos ninhos 3-4. ....	204
<b>Figura A60.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (499,87 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) do hidrocloreto da (2 <i>R</i> ,6 <i>R</i> )-2-metil-6-undecilpiperidina isolada do veneno das rainhas de <i>Solenopsis saevissima</i> dos ninhos 3-4. ....	204
<b>Figura A61.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (125,69 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) do hidrocloreto da (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i> )-2-metil-6-undecilpiperidina isolada do veneno das rainhas de <i>Solenopsis saevissima</i> dos ninhos 3-4: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90. ....	205
<b>Figura A62.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (125,69 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) do hidrocloreto da (2 <i>R</i> ,6 <i>R</i> )-2-metil-6-undecilpiperidina isolada do veneno das rainhas de <i>Solenopsis saevissima</i> dos ninhos 3-4: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.....	206
<b>Figura A63.</b> Espectro de massas (70 eV) da trifluoroacetamida da ( $\pm$ )- <i>cis</i> -2-metil-6-undecilpiperidina, mesmo espectro para a ( $\pm$ )- <i>trans</i> .....	207
<b>Figura A64.</b> Espectro de massas (70 eV) da trifluoroacetamida da ( $\pm$ )- <i>cis</i> -2-metil-6-tridecilpiperidina, mesmo espectro para a ( $\pm$ )- <i>trans</i> .....	207
<b>Figura A65.</b> Espectro de massas (70 eV) da trifluoroacetamida da ( $\pm$ )- <i>cis</i> -2-metil-6-pentadecilpiperidina, mesmo espectro para a ( $\pm$ )- <i>trans</i> .....	207
<b>Figura A66.</b> Espectro de massas (70 eV) da acetamida da ( $\pm$ )- <i>cis</i> -2-metil-6-undecilpiperidina, mesmo espectro para a ( $\pm$ )- <i>trans</i> .....	208
<b>Figura A67.</b> Espectro de massas (70 eV) da acetamida da ( $\pm$ )- <i>cis</i> -2-metil-6-tridecilpiperidina, mesmo espectro para a ( $\pm$ )- <i>trans</i> .....	208
<b>Figura A68.</b> Espectro de massas (70 eV) da acetamida da ( $\pm$ )- <i>cis</i> -2-metil-6-pentadecilpiperidina, mesmo espectro para a ( $\pm$ )- <i>trans</i> .....	208

## ÍNDICE DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Proposta biossintética para a <i>cis</i> - e a <i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidinas em <i>Solenopsis geminata</i> Fabricius. Esquema modificado de Leclercq <i>et al.</i> (1996). ....	32
<b>Esquema 2.</b> Representação da clivagem da ligação carbono-carbono do derivado DMDS de um <i>n</i> -alceno fornecendo dois fragmentos majoritários. Esquema baseado em Buser <i>et al.</i> (1983). ....	46
<b>Esquema 3.</b> Síntese das misturas racêmicas dos alcalóides piperidínicos.....	97
<b>Esquema 4.</b> Derivatização dos alcalóides piperidínicos das misturas racêmicas sintéticas. ....	104



## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Alcalóides encontrados no veneno de espécies de formigas do gênero <i>Solenopsis</i> .....	26
<b>Tabela 2.</b> Íons diagnósticos e índices de retenção dos compostos encontrados em rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier com abdômes inflados.* .....	48
<b>Tabela 3.</b> Composição química dos extratos epicuticulares, cefálicos, abdominais, das glândulas terçais e da glândula de Dufour das rainhas virgens de <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier com abdômes inflados. ...	50
<b>Tabela 4.</b> Íons diagnósticos e índices de retenção dos compostos voláteis de rainhas e machos de <i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i> Moure.....	66
<b>Tabela 5.</b> Composição química dos extratos epicuticulares e secreções anais de <i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i> Moure.....	69
<b>Tabela 6.</b> Composição química dos extratos das glândulas de Dufour e das glândulas terçais de rainhas de <i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i> Moure. ....	74
<b>Tabela 7.</b> Composição química dos extratos cefálicos de rainhas e machos de <i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i> Moure. ....	79
<b>Tabela 8.</b> Rendimento e razão diastereomérica dos alcalóides sintetizados...97	
<b>Tabela 9.</b> Alcalóides identificados no veneno da formiga <i>Solenopsis saevissima</i> Smith. ....	99
<b>Tabela 10.</b> Composição dos alcalóides piperidínicos (abundância relativa em %) de cinco ninhos da formiga <i>Solenopsis saevissima</i> Smith de Pedro do Rio-RJ.....	99
<b>Tabela 11.</b> Composição dos alcalóides piperidínicos (abundância relativa em %) de três ninhos da formiga <i>Solenopsis saevissima</i> Smith de Ubatuba-SP.....	100
<b>Tabela 12.</b> Razão diastereomérica e tempos de retenção das trifluoroacetamidas e acetamidas das misturas racêmicas dos alcalóides piperidínicos por CG quiral.....	105
<b>Tabela 13.</b> Monitoramento das razões diastereoméricas e enantioméricas dos derivados trifluoroacetamidas da <i>cis</i> - e <i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidinas do veneno das operárias e rainhas de <i>Solenopsis saevissima</i> Smith. ....	109
<b>Tabela 14.</b> Extratos de rainhas fisogástricas e virgens de <i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i> , compostos naturais isolados e padrões sintéticos e comerciais aplicados nos testes de campo .....	137



---

# INTRODUÇÃO

---



# 1. Introdução

## 1.1. Comunicação química

A comunicação dos organismos vivos ocorre através da transmissão de sinais sonoros, visuais, vibracionais, táteis e, principalmente, sinais químicos. Especificadamente, os sinais químicos (denominados de **infoquímicos**) são divididos em duas classes: hormônios e semioquímicos (Figura 1 abaixo). Os **hormônios** são biomoléculas responsáveis pela comunicação química entre células de um mesmo organismo multicelular, enquanto os **semioquímicos** são biomoléculas que desencadeiam uma resposta fisiológica ou comportamental entre indivíduos da mesma espécie ou de espécies diferentes (Billen, 2006; Francke e Schulz, 1999; Shani, 1998). Dependendo do seu modo de ação, os semioquímicos podem ser classificados em feromônios ou aleloquímicos (Sbarbati e Osculati, 2006).

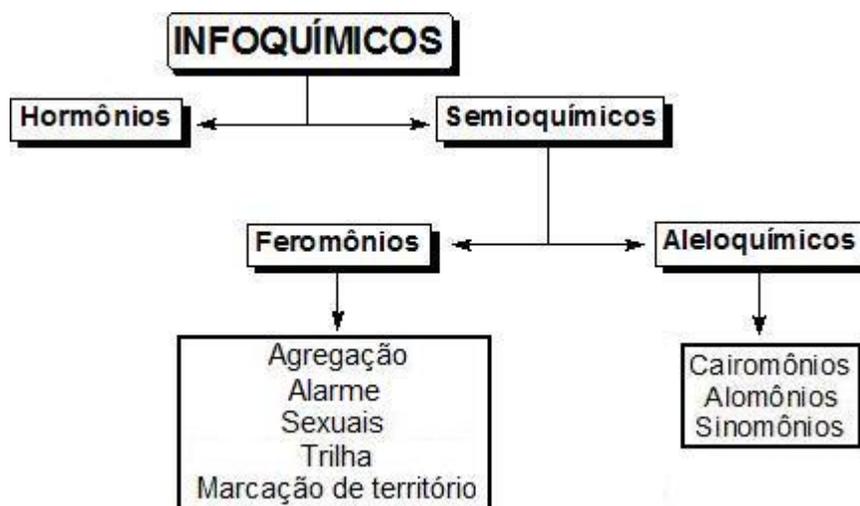


Figura 1. Terminologia de infoquímicos.

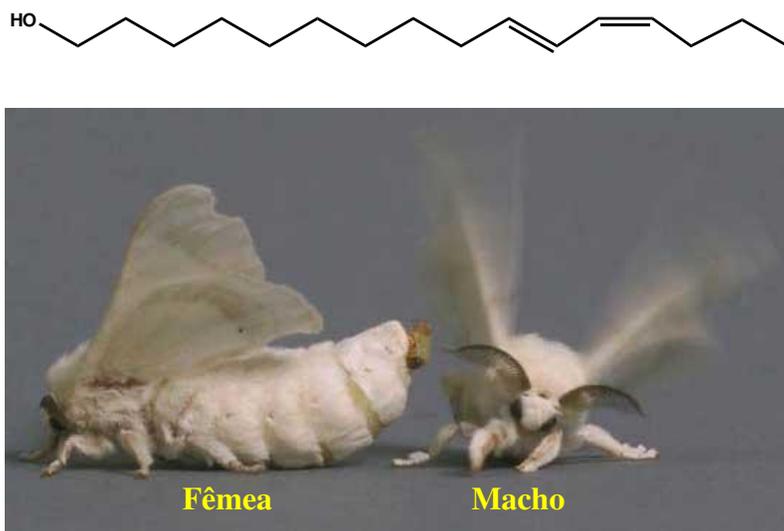
Os **feromônios** são empregados na comunicação química entre indivíduos da mesma espécie (Figura 1), sendo normalmente compostos por substâncias químicas de massa molecular de até 500 *u* (Francke e Schulz, 1999; Gullan e Cranston, 1994). Estes compostos podem ser classificados, de acordo com a reação que provocam no receptor, em cinco classes principais: 1) feromônios de agregação, 2) feromônios de marcação de território, 3) feromônios de trilha, 4) feromônios de alarme e 5) feromônios sexuais. Os **feromônios de agregação** são utilizados para a aglomeração de indivíduos da mesma espécie, por exemplo, para o uso máximo de uma fonte de alimento, o combate de intrusos no ninho e a localização de companheiros. Os **feromônios de marcação de território** são empregados para repelir competidores de fontes de alimento ou para a marcação de territórios por machos. Os **feromônios de trilha** são utilizados por muitos insetos sociais para marcar uma trilha particular entre a fonte de alimento e o ninho. Os **feromônios de alarme** são liberados quando um intruso ou um predador está próximo ao ninho, o que induz uma defesa agressiva em insetos sociais. E por último, os **feromônios sexuais** que são compostos utilizados por machos e fêmeas para atração e acasalamento. A produção e a liberação dos feromônios sexuais de atração tendem a ser restrita a um dos sexos, na maioria das vezes são as fêmeas que liberam estes compostos. Os feromônios que desencadeiam sequências comportamentais de corte e cópula agem a curta distância e podem ser simplesmente uma alta concentração do feromônio de atração ou uma mistura de compostos afrodisíacos que estimulam o acasalamento (Francke e Schulz, 1999; Gullan e Cranston, 1994).

Os feromônios podem afetar o sistema nervoso central de duas formas distintas, desencadeando uma resposta comportamental imediata após recepção, **feromônios liberadores** (“releasers”), por exemplo, os feromônios

que causam atração sexual, comportamento de defesa e agregação. O outro tipo são feromônios de efeito retardado, com modificação fisiológica do receptor em longo prazo, denominados de **feromônios iniciadores** (“primers”), por exemplo, feromônios que estimulam a determinação de castas em cupins e os ciclos menstruais em humanos e outros mamíferos (Regnier e Law, 1968; Wyatt, 2003). No entanto, este tipo de divisão é apenas uma classificação aproximada porque muitos feromônios têm ambos os papéis. Por exemplo, os feromônios da rainha de *Apis mellifera* Linnaeus que em vôo nupcial atraem machos (feromônios liberadores) e quando a rainha está dentro da colônia, estes feromônios agem como modificadores fisiológicos e comportamentais nas operárias (feromônios iniciadores) interrompendo o desenvolvimento dos ovários e também as atividades de criação de novas rainhas (Maisonnasse *et al.*, 2010; Regnier e Law, 1968; Wyatt, 2003).

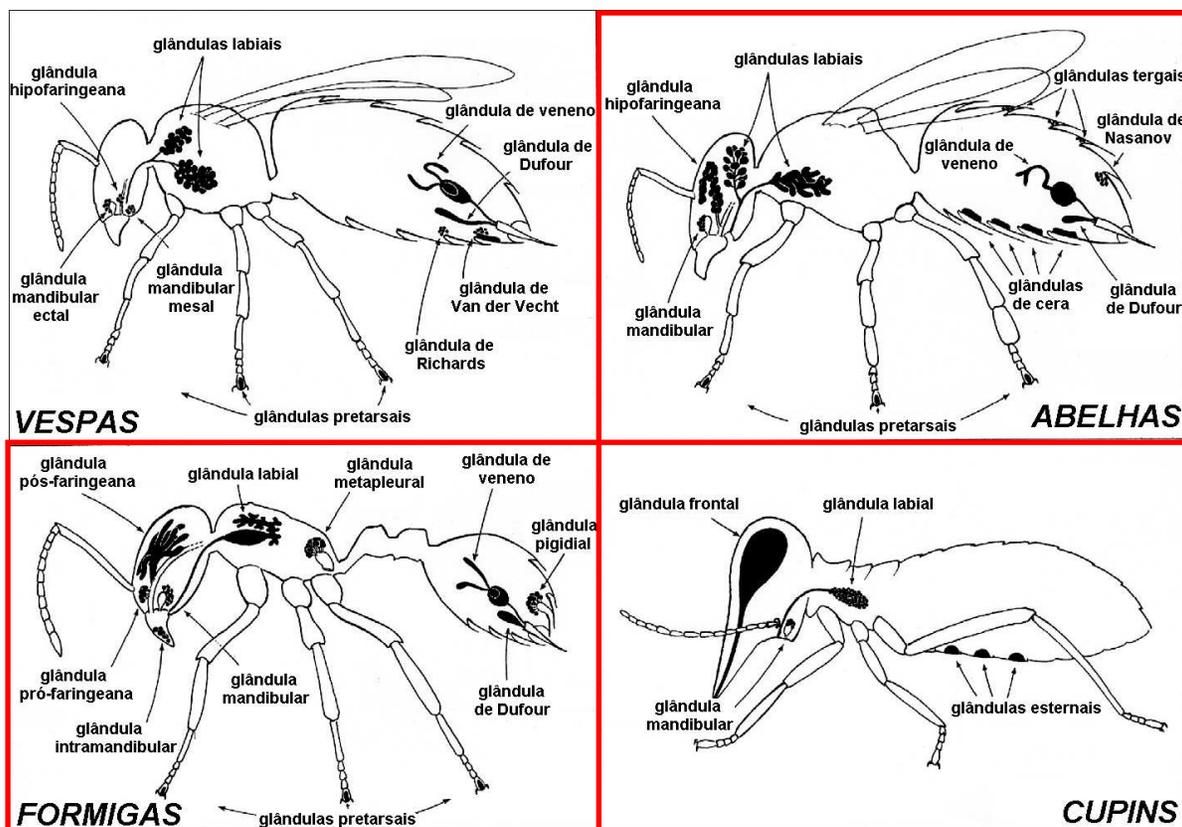
A distância percorrida por um feromônio para a transmissão de uma mensagem depende de alguns fatores, como sua volatibilidade, sua estabilidade no ar, sua velocidade de difusão, a estereoquímica dos compostos envolvidos, a eficiência olfatória do receptor (seus quimiorreceptores) e as correntes de ar. Um exemplo clássico encontrado na literatura é o feromônio sexual da mariposa fêmea do bicho-da-seda *Bombyx mori* Linnaeus, o (10*E*,12*Z*)-hexadeca-10,12-dien-1-ol, conhecido popularmente como bombicol (Figura 2). Este composto foi o primeiro feromônio sexual isolado e identificado, o qual está localizado no último segmento abdominal das fêmeas. Testes biológicos com machos de *B. mori* Linnaeus demonstraram que os insetos respondem exclusivamente ao isômero geométrico (10*E*,12*Z*)-hexadeca-10,12-dien-1-ol ao invés dos outros três isômeros possíveis, sendo que uma única mudança na estereoquímica de uma das duplas ligações do bombicol diminuiu a sua atividade biológica em bilhões de vezes. Isto

demonstra a atividade impressionante de um único isômero atribuída a alta eficiência e seletividade dos quimiorreceptores dos machos de *B. mori* (Mori, 1998; Regnier e Law, 1968).



**Figura 2.** Bombycol, feromônio sexual da mariposa fêmea do bicho-da-seda *Bombyx mori* Linnaeus. Figura retirada de Sarah (2012).

Os **aleloquímicos** formam outra classe de semioquímicos (Figura 1) que mediam a comunicação química entre indivíduos de espécies diferentes. Os aleloquímicos estão subdivididos em três subgrupos: “caïromônios” que são moléculas que beneficiam o organismo receptor, “alomônios” que beneficiam o emissor e “sinomônios” que beneficiam ambos, receptor e emissor (Harborne, 2001; Mori, 1998). Estudos envolvendo os infoquímicos fazem parte da **Ecologia Química**, a qual estuda as funções das substâncias químicas liberadas nas interações entre os mais variados organismos (Francke e Schulz, 1999).



**Figura 3.** Principais glândulas exócrinas nos insetos sociais. Figura modificada de Billen (2006).

A comunicação química de insetos sociais da ordem Hymenoptera (abelhas, vespas e formigas) e da ordem Isoptera (cupins) é bem conhecida. O modo de vida social destes insetos, em constante contato com os companheiros do ninho, permitiu o desenvolvimento de um sistema de comunicação eficiente através de sinais químicos liberados por glândulas exócrinas (Figura 3 acima). Estima-se que aproximadamente 105 glândulas exócrinas estão presentes no corpo dos insetos sociais e que os compostos liberados por estas glândulas possuem funções específicas (Figura 3), por exemplo, na produção de material para a construção do ninho (glândulas de cera), comunicação química entre os companheiros (glândula mandibular), diferenciação hierárquica das castas (glândula de cera e glândula de Dufour),

compostos de defesa (glândula de veneno), entre outras funções. Sabe-se que a mistura secretada ou somente um componente pode agir como semioquímico (Billen, 2006; Gullan e Cranston, 1994; Hefetz, 1987; Sbarbati e Osculati, 2006).

As abelhas e as formigas são exemplos de insetos sociais com comunidades organizadas e que possuem colônias com muitos indivíduos.

## **1.2. As abelhas**

As abelhas, segundo Silveira e colaboradores (2002), estão reunidas na superfamília Apoidea que é constituída por nove famílias: Andrenidae, Apidae, Colletidae, Dasypodidae, Halictidae, Megachilidae, Meganomiidae, Melittidae e Stenotritidae. Existem aproximadamente 20000 espécies de abelhas no mundo e um quarto destas espécies estão presentes no Brasil (Bell e Cardé, 1984; Gullan e Cranston, 1994; Nogueira-Neto, 1997; Roubik, 1989, Silveira *et al.*, 2002).

As abelhas são classificadas em três categorias: **solitárias**, **parasitas** e **sociais**. A maioria das espécies de abelhas são **abelhas solitárias** (~ 80%), pois a fêmea acaba morrendo antes de suas proles nascerem e não há contato entre as gerações. A fêmea da abelha solitária constrói e cuida do seu próprio ninho individualmente que é constituído por várias células individuais de cria. Outra categoria de abelhas são as **abelhas parasitas** (~ 15% das espécies de abelhas), as quais utilizam células de cria de outras espécies de abelhas para ovipositar<sup>1</sup>. As larvas destas abelhas parasitas sobrevivem com o alimento das células de cria invadidas e, por isso, acabam matando as larvas da abelha hospedeira. Finalmente, a minoria das espécies de abelhas são **abelhas sociais**

---

<sup>1</sup> **Ovipositar**: ato da postura de ovos (botar).

(~ 5%), isto é, abelhas que vivem em colônias com vários indivíduos e as fêmeas dividem-se em castas: operárias e rainhas (Alves-dos-Santos *et al.*, 2007). Entre as abelhas sociais destacam-se as abelhas européias (*Apis mellifera mellifera* Linnaeus) e as abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) por serem popularmente conhecidas como abelhas muito agressivas e ótimas produtoras de mel (Michener, 2000; Roubik, 1989).

As abelhas sociais pertencentes à subtribo Meliponina (família: Apidae) são conhecidas como ‘**meliponíneos**’ (nome em homenagem a subtribo) ou ‘**abelhas sem ferrão**’, pois possuem um ferrão<sup>2</sup> atrofiado ou ausente (Nogueira-Neto, 1970, 1997).

As abelhas sem ferrão são pantropicais<sup>3</sup> e eusociais<sup>4</sup>. Segundo Silveira e colaboradores (2002), os meliponíneos brasileiros podem ser classificados em 27 gêneros: *Aparatrigona*, *Camargoia*, *Cephalotrigona*, *Duckeola*, *Fliesella*, *Frieseomelitta*, *Geotrigona*, *Lestrimelitta*, *Leurotrigona*, *Melipona*, *Mourella*, *Nannotrigona*, *Nogueirapis*, *Oxytrigona*, *Paratrigona*, *Partamona*, *Plebeia*, *Ptilotrigona*, *Scaptotrigona*, *Scaura*, *Schwarziana*, *Schwarzula*, *Tetragona*, *Tetragonisca*, *Trichotrigona*, *Trigona* e *Trigonisca*. Estas abelhas são responsáveis por 40 a 90% da polinização da flora nativa do Brasil (Bell e Cardé, 1984; Kerr *et al.*, 1996; Silveira *et al.*, 2002).

Todas as espécies de abelhas sem ferrão produzem muitas **rainhas virgens**<sup>5</sup> (Figura 4A) durante todo o ano, sendo uma maneira de evitar que o ninho permaneça sem uma **rainha-mãe** ou **rainha fisogástrica**<sup>6</sup> (Figuras 4B e 4C), e também é uma maneira das operárias testarem a qualidade da rainha

---

<sup>2</sup> **Ferrão:** instrumento de defesa localizado no abdome das fêmeas dos hymenopteras.

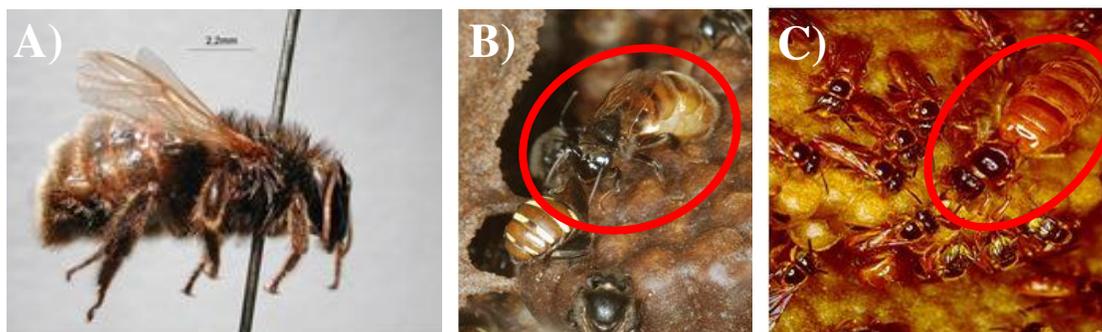
<sup>3</sup> **Pantropicais:** ocorrem somente nas regiões tropicais e subtropicais.

<sup>4</sup> **Eusociais:** vivem em colônias permanentes com divisões de castas, divisões de trabalho e com contato entre as gerações.

<sup>5</sup> **Rainhas virgens:** rainhas que ainda não acasalaram com os machos.

<sup>6</sup> **Rainha fisogástrica:** rainha responsável pela postura dos ovos que originam todas as outras castas do ninho e que possui um abdome bem desenvolvido.

fisogástrica que, dependendo de sua condição, pode ser substituída por uma de suas filhas com maior qualidade de reprodução (Imperatriz-Fonseca e Zucchi, 1995; Koedam *et al.*, 1995; Silva *et al.*, 1972; Tarpy e Gilley, 2004).

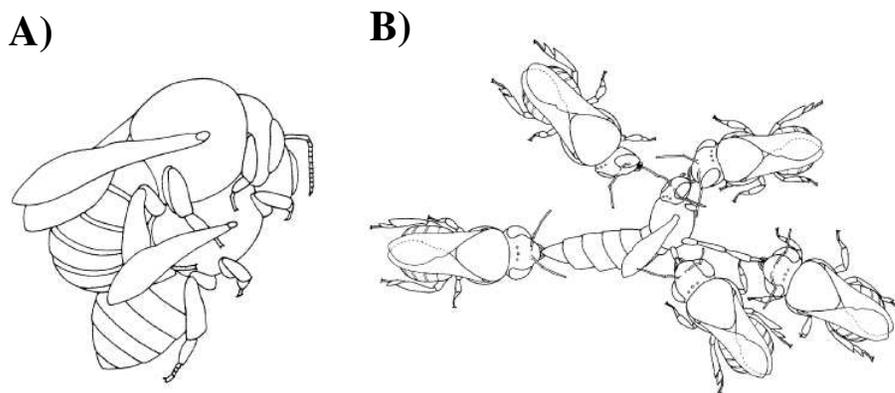


**Figura 4.** (A) Vista lateral de rainha virgem de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier; (B) rainha fisogástrica de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier; e (C) rainha fisogástrica de *Tetragonisca angustula* Latreille. Figuras retiradas de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (2010) e rainhas no favo (2010).

As rainhas virgens de *Paratrigona subnuda* Moure, *Melipona quadrifasciata* Lepeletier e *M. favosa* Fabricius, alguns dias depois de emergirem<sup>7</sup> do favo de cria, correm rapidamente dentro do ninho, batendo as asas e realizando contatos trofaláxicos<sup>8</sup> e de antenas com as operárias de corte (Koedam *et al.*, 1995; Silva *et al.*, 1972). Nesta fase do desenvolvimento foi observado que as rainhas virgens recém-emergidas de *Melipona* são fortemente agredidas pelas operárias, sofrendo perseguições, empurrões e mordidas (Figuras 5A e 5B), levando a morte eventual de muitas destas rainhas (Imperatriz-Fonseca e Zucchi, 1995; Tarpy e Gilley, 2004; Van Veen *et al.*, 1999; Wenseleers *et al.*, 2004).

<sup>7</sup> **Emergir:** nascer, sair.

<sup>8</sup> **Trofalaxia:** é um processo de alimentação em que um indivíduo transfere para outro o alimento que se encontra dentro do seu próprio tubo digestivo por regurgitação.



**Figura 5.** Desenhos baseados em fotografias da execução de rainhas virgens por operárias em *Melipona beecheii* Bennett: (A) procedimento de decaptação realizado por uma operária que assume uma posição atrás da rainha virgem, removendo sua cabeça com as mandíbulas; e (B) pequeno grupo de operárias puxando as extremidades da rainha virgem. Figuras retiradas e modificadas de Wenseleers *et al.* (2004).

Este processo de seleção ou eliminação de rainhas virgens pelas operárias de *Melipona* é marcado por uma mudança brusca no comportamento destas rainhas, que então inflam o abdome<sup>9</sup>. Este fenômeno não foi observado em outros gêneros de abelha sem ferrão (Imperatriz-Fonseca e Zucchi, 1995). As rainhas virgens de abdome inflado buscam expô-lo para todas as operárias através de movimentos circulares. Em algumas espécies, como em *M. quadrifasciata* Lepeletier e *M. marginata* Lepeletier, as rainhas virgens no auge do período atrativo, além de realizar movimentos circulares, esfregam o abdome inflado na cabeça das operárias (Imperatriz-Fonseca e Zucchi, 1995). Possivelmente as rainhas virgens de abdome inflado liberam algum feromônio para sinalizar o potencial reprodutivo para as operárias (Imperatriz-Fonseca e Zucchi, 1995; Koedam *et al.*, 1995; Van Veen *et al.*, 1999). Curiosamente, a rainha virgem de *M. beecheii* Bennett que é selecionada pelas operárias para ser a rainha-mãe (rainha no último estágio de desenvolvimento) é sempre aquela que permanece com este alongamento do abdome por um período de

<sup>9</sup> **Inflar o abdome:** ato de alongar ou estender o abdome.

tempo mais prolongado. No entanto, a maioria das rainhas virgens de *M. beecheii* Bennett acaba sendo eliminadas pelas operárias antes mesmo deste estágio de abdome inflado (80,4% das rainhas virgens) (Van Veen *et al.*, 1999).

O percurso da vida de uma rainha até tornar-se a rainha-mãe de um ninho é sempre iniciado pelo processo de seleção das rainhas virgens pelas operárias (Imperatriz-Fonseca e Zucchi, 1995; Wenseleers *et al.*, 2004). Neste mesmo período de tempo, próximo à entrada do ninho em espécies como *Scaptotrigona postica* Latreille, *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure e *Tetragonisca angustula* Latreille ocorre à formação de aglomerações de machos a espera da rainha virgem selecionada (Figura 6), a qual emergirá do ninho para o vôo nupcial (Engels, 1987; Van Veen e Sommeijer, 2000). Poucos relatos existem sobre o acasalamento das abelhas sem ferrão, mas sabe-se que ao retornar do vôo nupcial, a rainha possui um “sinal de acasalamento” que é o órgão genital do macho acoplado a genitália, o que indica que a rainha realizou pelo menos uma cópula<sup>10</sup> (Imperatriz-Fonseca e Zucchi, 1995; Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 1972). O vôo nupcial é realizado uma única vez pelas rainhas das abelhas sem ferrão porque após o acasalamento, a rainha torna-se a rainha fisogástrica, ou rainha-mãe, com um abdome grande e cheio de ovos que a impossibilita de voar novamente e a faz permanecer constantemente no ninho até ser substituída por outra rainha (Carvalho-Zilse e Kerr, 2004; Peters *et al.*, 1999).

---

<sup>10</sup> **Cópula:** ato de acasalamento da rainha com um macho.

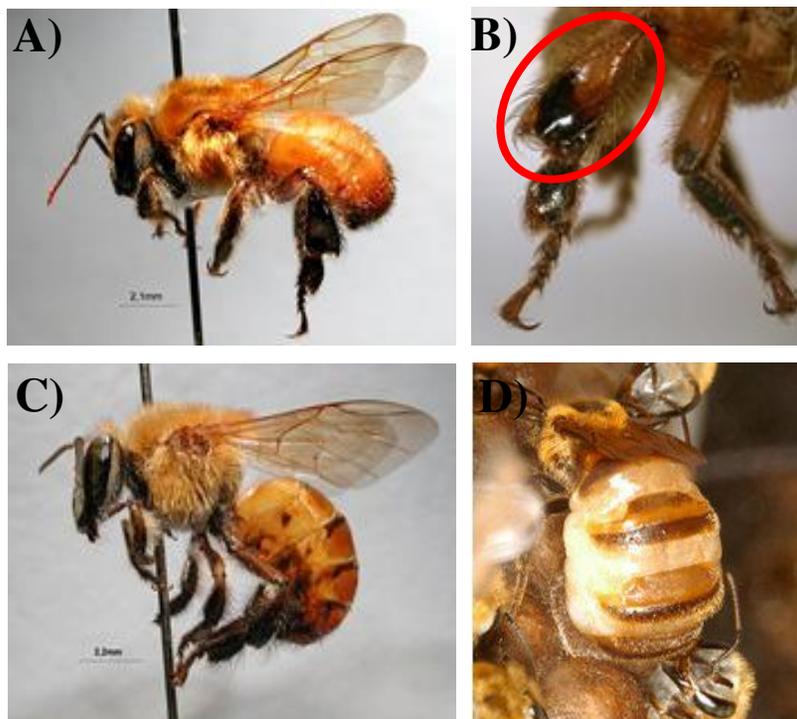


**Figura 6.** Aglomeração de machos de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure ao lado da entrada do ninho. Foto: Adriana Pianaro.

Campos e Melo (1990) observaram que as rainhas fisogástricas de *M. quadrifasciata* Lepeletier atraem os machos e podem realizar novamente a cópula, mesmo não executando o vôo nupcial. Este fenômeno foi reportado pela primeira vez por Sakagami e Laroca (1953) com uma rainha fisogástrica da abelha sem ferrão *Lestrimelitta ehrhardti* Friese, sugerindo que o acasalamento múltiplo, com mais de um macho, pode acontecer na manipulação das colônias de abelhas sem ferrão (Campos e Melo, 1990; Sakagami e Laroca, 1953).

As **operárias** das abelhas sem ferrão realizam a maior parte dos trabalhos na colônia e são diferenciadas dos machos e das rainhas pela presença de uma concavidade nas pernas posteriores, denominada de corbícula (Figuras 7A e 7B). As operárias também podem realizar a postura de ovos (**operárias poedeiras**), sendo que todos os ovos produzidos por estas operárias originam somente **machos** porque são ovos que não sofreram fecundação (Figura 7C). Os machos também podem ser originados de ovos da rainha fisogástrica (Figura 7D). A única função conhecida para os machos de

meliponíneos é a reprodução, a mesma função de todos os machos em insetos sociais (Bell e Cardé, 1984; Lacerda e Simões, 2006; Nogueira-Neto, 1997).

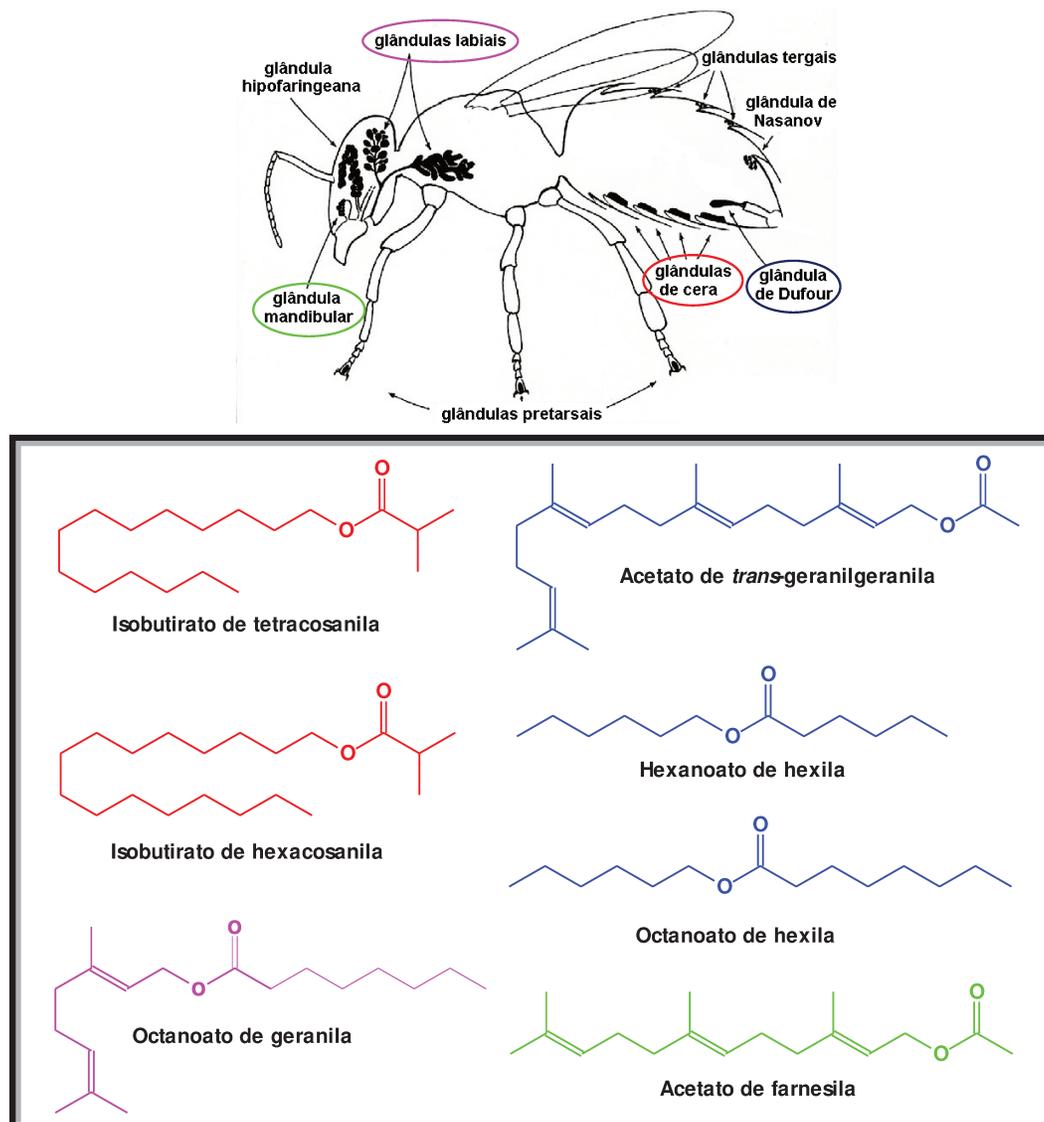


**Figura 7.** Fotos das diferentes castas de *Melipona rufiventris* Lepeletier: (A) vista lateral de uma operária; (B) vista lateral da perna posterior da operária, em destaque a corbícula; (C) vista lateral do macho; e (D) rainha fisogástrica. Figuras retiradas de *Melipona rufiventris* Lepeletier (2012) e rainhas no favo (2010).

### 1.2.1. Comunicação química das abelhas sem ferrão

As abelhas sem ferrão, como os demais insetos sociais, possuem um sistema de comunicação que é importante para a organização social em rainhas, operárias e machos. A sinalização química é o seu principal meio de comunicação, uma vez que a liberação de compostos voláteis ou a presença de compostos não voláteis em partes específicas do corpo destes insetos mediam suas respostas comportamentais dentro e fora do ninho (Jungnickel *et al.*, 2004; Nunes *et al.*, 2011).

Existem aproximadamente 400 espécies de abelhas sem ferrão e ainda muito pouco se sabe sobre a comunicação química destas abelhas (Nunes *et al.*, 2009a). Entre os trabalhos já relatados com abelhas sem ferrão destacam-se as determinações da composição química e funções biológicas de compostos liberados pelas glândulas de cera, glândula de Dufour, glândulas mandibulares e glândulas labiais (Figura 8).



**Figura 8.** Compostos voláteis identificados em abelhas sem ferrão. As estruturas dos compostos estão coloridas de acordo com a cor que representa a glândula onde foram localizados. Figura de uma abelha modificada de Billen (2006).

Os lipídeos cuticulares das abelhas sem ferrão são principalmente constituídos por hidrocarbonetos (alcanos, metil alcanos, alcenos e alcadienos) com cadeias de 15 a 35 átomos de carbono e em algumas espécies, estes lipídeos cuticulares também possuem outras classes de compostos, por exemplo, terpenos em *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier e *Plebeia droryana* Friese, ésteres em *M. scutellaris* Latreille e álcoois, ácidos carboxílicos, aldeídos e ésteres em *Frieseomelitta varia* Lepeletier (Nunes *et al.*, 2009a; Pianaro *et al.*, 2007, 2009). Estes compostos cuticulares em insetos sociais são responsáveis pelo reconhecimento dos companheiros de um mesmo ninho, pela identificação de membros de castas diferentes e podem auxiliar na quimiotaxonomia das espécies, pois são espécie-específicos, além de serem importantes para evitar a dessecação da cutícula<sup>11</sup> (Ferreira-Caliman *et al.*, 2010; Nunes *et al.*, 2011; Singer, 1998).

A análise dos hidrocarbonetos cuticulares da abelha sem ferrão *F. varia* Lepeletier demonstrou que as rainhas fisogástricas possuíam uma composição química distinta em relação às demais castas (operárias e rainhas virgens) e aos machos, com altas abundâncias relativas de alcenos (C25:1, C27:1, C29:1 e C31:1) e alcadienos (C29:2 e C31:2) (Nunes *et al.*, 2009a). Entretanto, a comparação dos hidrocarbonetos cuticulares de operárias, machos (recém-emergidos e mais velhos) e rainhas virgens de *F. varia* Lepeletier revelou diferenças nas proporções de alcanos, alcenos e metil alcanos, mas sempre os mesmos compostos majoritários (pentacosano, heptacosano e nonacosano) estavam presentes em todas as castas. De acordo com Nunes e colaboradores (2009b), a diferença na composição dos hidrocarbonetos cuticulares de indivíduos mais jovens e mais velhos do mesmo ninho é devido ao tempo de

---

<sup>11</sup> **Cutícula:** exoesqueleto; cobertura resistente e flexível do corpo.

exposição das abelhas com a cera de construção do ninho, o cerume<sup>12</sup>, que pode resultar na transferência de alguns lipídeos do material do ninho para a cutícula dos indivíduos mais jovens proporcionando uma característica específica para cada colônia de abelha sem ferrão (Nunes *et al.*, 2009b).

As operárias e as rainhas virgens de *M. bicolor* Lepeletier produzem placas transparentes de cera liberadas pelas **glândulas de cera** localizadas no abdome (Figura 8 acima), as quais possuem a mesma composição química em ambas castas, sendo constituídas de ésteres de cadeia longa (acetato de tetracosanila, acetato de hexacosanila, acetato de octacosanila, acetato de triacontanila, acetato de dotriacontanila, isobutirato de octacosanila e isobutirato de triacontanila), alcanos (C21 a C31), alcenos (C21:1 a C31:1) e pequenas quantidades de aldeídos lineares (docosanal, tetracosanal, hexacosanal, octacosanal e triacontanal). Entretanto, o isobutirato de tetracosanila e o isobutirato de hexacosanila (Figura 8) foram encontrados somente nas ceras das rainhas virgens de *M. bicolor* Lepeletier (Koedam *et al.*, 2002). Estas diferenças observadas nas ceras das abelhas sem ferrão estão de acordo com os vários estudos realizados com insetos sociais, os quais sugerem que compostos podem ser usados como sinais químicos para repassar informações sobre a casta, a idade, o sexo e o estado reprodutivo dos indivíduos (Howard e Blomquist, 2005).

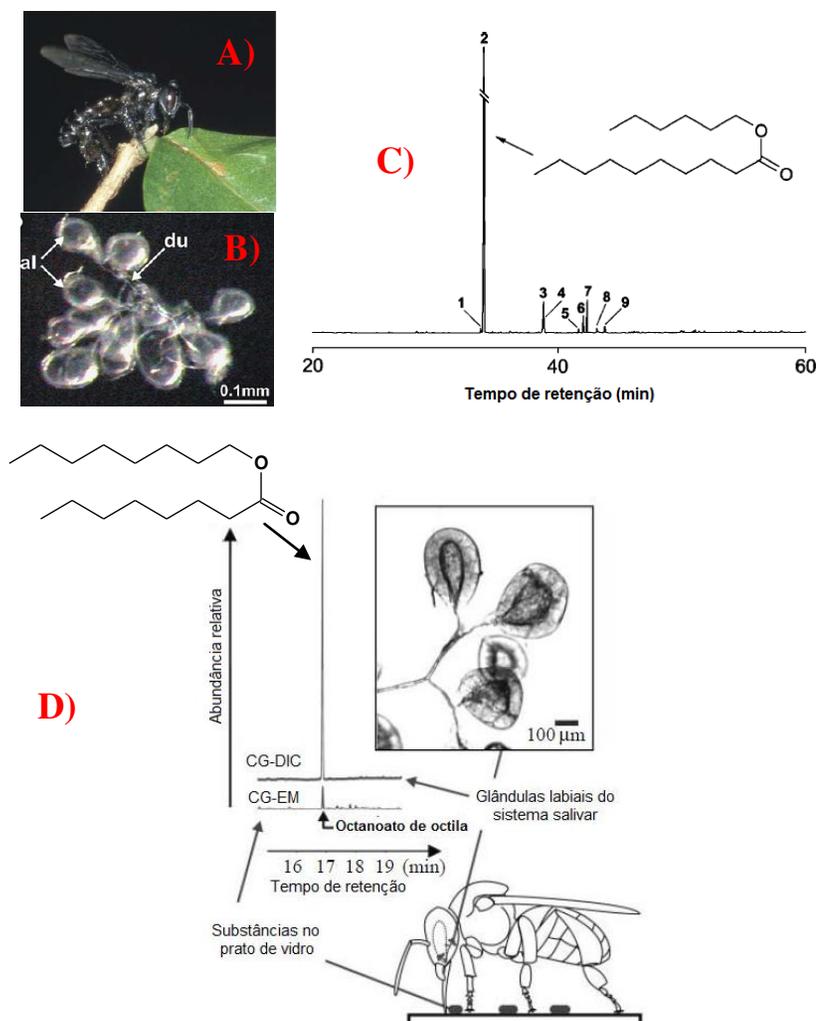
Outra glândula estudada nas abelhas sem ferrão é a **glândula de Dufour**, localizada no abdome (Figura 8 acima). A análise da composição química da secreção da glândula de Dufour de operárias de *N. testaceicornis* Lepeletier revelou a presença majoritária de um éster diterpênico, o acetato de *trans*-geranilgeranila (Figura 8), e tanto as amostras do Brasil como as do México possuíam a mesma composição (Cruz-López *et al.*, 2001). Em

---

<sup>12</sup> **Cerume:** mistura da cera produzida pelas abelhas com resinas de plantas.

*Scaptotrigona mexicana* Guérin-Méneville, a composição das secreções da glândula de Dufour de rainhas virgens e rainhas fisogástricas revelaram diferenças na composição química. O extrato da glândula de Dufour das rainhas fisogástricas de *S. mexicana* Guérin-Méneville é constituído por ésteres (principalmente hexanoato de hexila e octanoato de hexila; Figura 8), enquanto a glândula de Dufour das rainhas virgens é constituída por álcoois (2-heptanol, 2-nonanol, undecadien-2-ol, undecen-2-ol, 2-undecanol), cetonas (2-heptanona e 2-nonanona), um alcano (C10) e ésteres (hexanoato de hexila e octanoato de hexila). Até o presente momento, nenhuma função específica foi descoberta para a glândula de Dufour em abelhas sem ferrão (Grajales-Conesa *et al.*, 2007).

As **glândulas mandibulares e labiais** (Figura 8 acima) produzem compostos voláteis que pela sua ação no ambiente destas abelhas agem como feromônios de trilha ou feromônios de alarme (Barth *et al.*, 2008; Cruz-López *et al.*, 2005). O extrato das glândulas mandibulares das operárias de *M. beecheii* Bennett contém uma mistura de hidrocarbonetos saturados e insaturados, terpenóides e compostos oxigenados. O geraniol e o acetato de farnesila (Figura 8), presentes no extrato, induziram o ataque de operárias ao fantoche testado em bioensaio, concluindo que estes compostos agem como feromônios de alarme (Cruz-López *et al.*, 2005). O decanoato de hexila e o octanoato de octila, compostos majoritários dos extratos das glândulas labiais das operárias forrageiras de *Trigona recursa* Smith e *T. spinipes* Fabricius, respectivamente (Figuras 9 A-D), foram os primeiros feromônios de trilha identificados nas abelhas sem ferrão (Barth *et al.*, 2008).

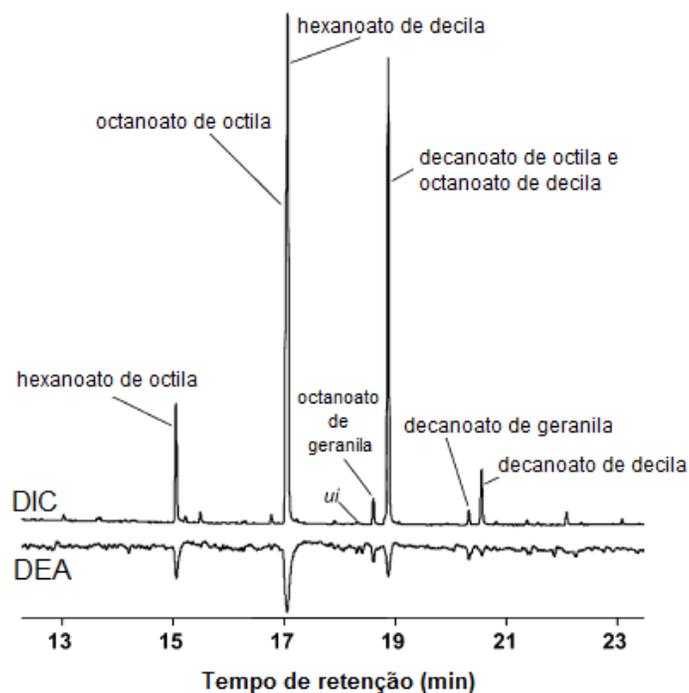


**Figura 9.** (A) Operária forrageira de *Trigona recursa* Smith depositando marca de cheiro em uma folha; (B) glândulas labiais de operária forrageira de *Trigona recursa* Smith; (C) cromatograma de íons do extrato das glândulas labiais de operárias forrageiras de *Trigona recursa* Smith, em destaque o decanoato de hexila; e (D) cromatogramas de CG-DIC e CG-EM dos extratos das glândulas labiais de *Trigona spinipes* Fabricius, em destaque o octanoato de octila. Figuras modificadas de Jarau *et al.* (2006) e Schorkopf *et al.* (2007).

O decanoato de hexila e os extratos das glândulas labiais e mandibulares de *T. recursa* Smith foram testados em trilhas de cheiro artificiais e verificaram-se que 35% das abelhas testadas seguiram as trilhas do extrato da glândula labial, 10% das abelhas seguiram a trilha com decanoato de hexila e uma porcentagem muito pequena (0,4%) das abelhas seguiu a trilha do extrato das glândulas mandibulares (Jarau *et al.*, 2006). Em *T. spinipes* Fabricius, as

trilhas de cheiro artificiais feitas com o octanoato de octila sintético foram tão atrativas para as abelhas como as trilhas com o extrato das glândulas labiais. Estes bioensaios confirmaram a deposição de feromônios de trilha pelas operárias forrageiras das abelhas sem ferrão em substratos sólidos entre o alimento e o ninho para sinalização do caminho (Schorkopf *et al.*, 2007).

As análises dos extratos das glândulas labiais de operárias forrageiras de *T. corvina* Cockerell revelaram a presença de ésteres de cadeia longa (hexanoato de octila, octanoato de octila, hexanoato de decila, decanoato de octila, decanoato de decila e decanoato de decila) e ésteres terpênicos (octanoato de geranila e decanoato de geranila) (Jarau *et al.*, 2010a). Os extratos das glândulas labiais de operárias forrageiras de três ninhos diferentes apresentaram a mesma composição química, mas com proporções relativas diferentes, o que segundo Jarau e colaboradores (2010a) devem servir para evitar confusões nas trilhas depositadas por operárias de ninhos diferentes e diminuir a competição pela fonte de alimento. Os testes com um cromatógrafo a gás acoplado a um detector eletroantegráfico (CG-DEA) demonstraram que todos os ésteres apresentaram resposta positiva para os quimiorreceptores das antenas de operárias forrageiras de *T. corvina* Cockerell (Figura 10) e os bioensaios revelaram que os extratos das glândulas labiais atraíam as operárias, ao contrário da mistura sintética dos compostos que não apresentou nenhuma resposta (Jarau *et al.*, 2010a).



**Figura 10.** Cromatograma de ionização em chama (DIC) do extrato das glândulas labiais de operárias forrageiras de *Trigona corvina* Cockerell e simultaneamente a obtenção das respostas dos quimiorreceptores da antena de uma operária do mesmo ninho por detecção eletroantenográfica (DEA). Os nomes dos compostos ativos fisiologicamente são colocados no cromatograma. *ui* = composto não identificado. Figura modificada de Jarau *et al.* (2010a).

A descoberta dos feromônios sexuais das abelhas sem ferrão é o mais novo desafio no estudo da comunicação química destas abelhas, pois pouco se sabe sobre estes feromônios (Engels e Engels, 1988; Verdugo-Dardon *et al.*, 2011). A dificuldade é descobrir o momento exato no qual as rainhas virgens estão prontas para a cópula e liberando os feromônios sexuais. Sabe-se que as rainhas virgens de *S. postica* Latreille tornam-se atrativas aos machos com 10 a 14 dias após emergência dos favos de cria (Engels e Engels, 1988; Menezes, 2010).

A multiplicação de colônias empregando técnicas de produção, como a produção em laboratório de rainhas *in vitro*, está sendo aplicada em abelhas sem ferrão para auxiliar no aproveitamento do maior número possível de

rainhas que nascem no ninho (Menezes, 2010). Além disso, a multiplicação de colônias das abelhas sem ferrão é de extrema importância agrícola e comercial, visto que estas abelhas são polinizadoras de várias culturas agrícolas, como o tomate (Santos *et al.*, 2009), o pepino (Santos *et al.*, 2008) e o morango (Roselino *et al.*, 2009), os quais produzem uma quantidade maior de frutos deformados e menores quando não polinizados por estas abelhas (Heard, 1999; Slaa *et al.*, 2006). A descoberta dos feromônios sexuais envolvidos na atratividade de machos e rainhas visa auxiliar na multiplicação de colônias através da produção de rainhas *in vitro*.

Uma revisão geral sobre abelhas e sobre a comunicação química de abelhas sem ferrão foi apresentada, na sequência será relatada uma revisão sobre formigas.

### **1.3. As formigas**

As formigas são insetos eusociais pertencentes à família Formicidae, ordem Hymenoptera. Estima-se que mais de 12000 espécies de formigas já foram descritas (Gullan e Cranston, 1994; Schultz, 2000; Ward, 2007).

Estes insetos possuem colônias poligínicas<sup>13</sup> ou monogínicas<sup>14</sup>. Além disso, algumas espécies de formigas possuem somente operárias monomórficas<sup>15</sup>, mas existem espécies que possuem operárias polimórficas<sup>16</sup> com subcastas distintas que são descritas de acordo com seus tamanhos em operárias grandes ou pequenas (Figura 11). O polimorfismo em formigas é acompanhado do polietismo, isto é, a rainha exerce a função restrita da

---

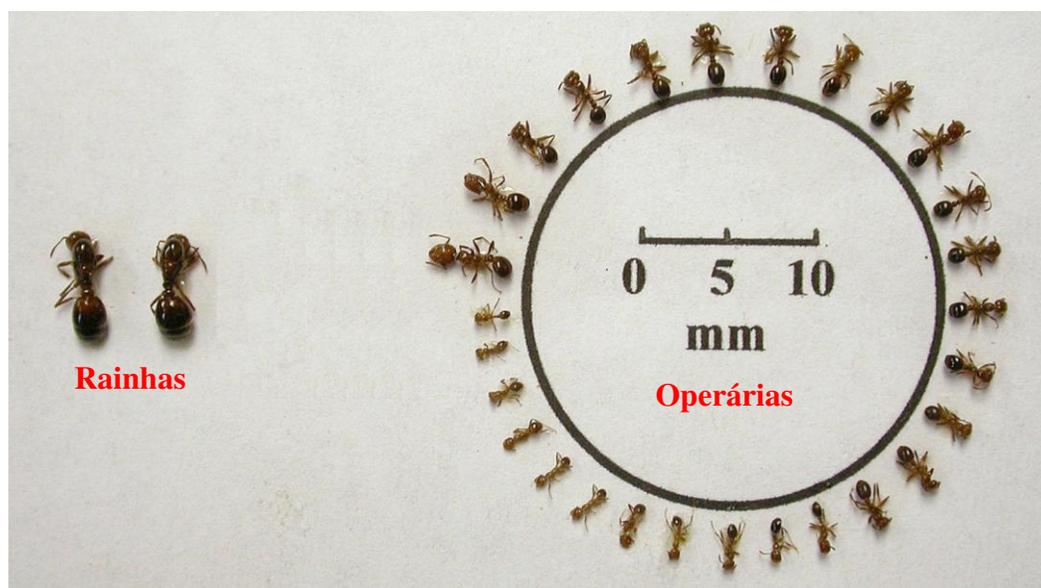
<sup>13</sup> **Colônias poligínicas:** colônias com várias rainhas fisogástricas.

<sup>14</sup> **Colônias monogínicas:** colônias com uma única rainha fisogástrica.

<sup>15</sup> **Operárias monomórficas:** operárias com um único tamanho.

<sup>16</sup> **Operárias polimórficas:** operárias com vários tamanhos.

oviposição (a única que coloca os ovos) e as operárias exercem todas as outras funções no ninho. Se as operárias são monomórficas existe o polietismo de idade, quando são operárias jovens cuidam dos afazeres internos do ninho e já como operárias mais velhas fazem o forrageamento, isto é, a coleta de alimentos e materiais de construção. Se as operárias são polimórficas, a subcasta de operárias grandes possui a função de soldados com a responsabilidade de defesa do ninho. Em algumas espécies do gênero *Solenopsis*, as operárias possuem ovários reduzidos, por isso são estéres, enquanto em outras espécies de *Solenopsis*, as operárias têm ovários funcionais e produzem a maioria dos machos da colônia, originados de ovos não fertilizados (Araujo e Tschinkel, 2010; Gullan e Cranston, 1994).



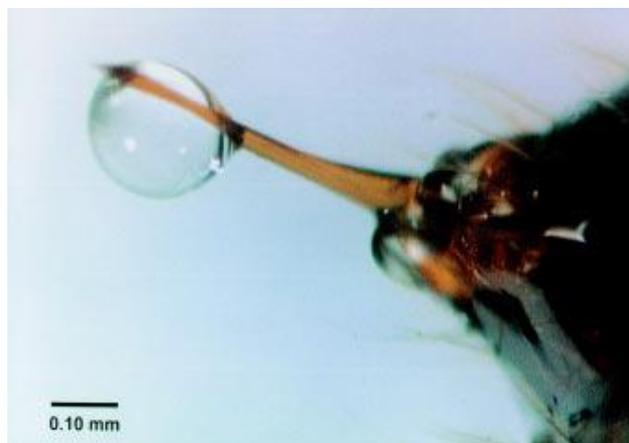
**Figura 11.** Polimorfismo de uma colônia poligínica da formiga *Solenopsis invicta* Buren, em destaque ao lado esquerdo as rainhas múltiplas do ninho. A circunferência demonstra a variação do tamanho das operárias. Figura retirada de Araujo e Tschinkel (2010).

As formigas são atualmente classificadas em 25 subfamílias, entre elas esta a subfamília Myrmicinae, na qual estão classificadas as formigas do gênero *Solenopsis* (Ward, 2007).

### 1.3.1. Formigas do gênero *Solenopsis*

As formigas *Solenopsis* são conhecidas mundialmente como “fire ants”, devido ao efeito ardido de suas picadas, e no Brasil são conhecidas popularmente como formigas “lava-pés”. Estas formigas são muito agressivas e consideradas uma praga que afeta os seres humanos, a agricultura e a pecuária. Entre as várias espécies de *Solenopsis*, as espécies que se destacam mundialmente pela agressividade em humanos são *S. invicta* Buren, *S. richteri* Forel, *S. geminata* Fabricius, *S. saevissima* Smith, *S. xyloni* McCook e *S. aurea* Wheeler (Attygalle e Morgan, 1984; Chen *et al.*, 2009a; Hoffman, 2010).

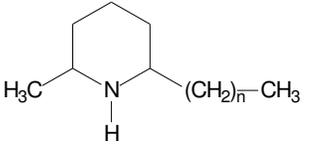
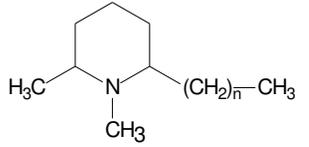
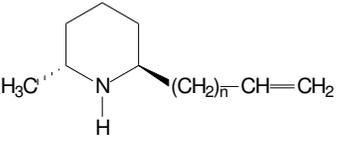
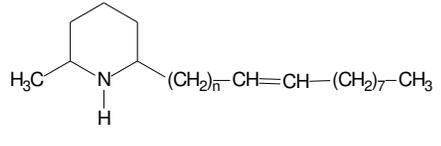
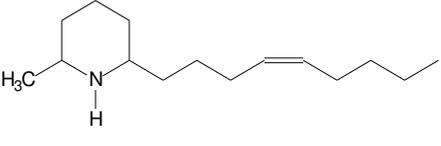
O veneno produzido pelas formigas *Solenopsis* (Figura 12) possui propriedades inseticidas, fungicidas, bactericidas e hemolíticas (Attygalle e Morgan, 1984; Chen e Fadamiro, 2009b, 2009c; Deslippe e Guo, 2000; Jones *et al.*, 1982; Leclercq *et al.*, 1994). A injeção do veneno em humanos alérgicos causa reações locais persistentes, por exemplo, formação de pústulas e necrose da epiderme (Deslippe e Guo, 2000; Fernández-Meléndez *et al.*, 2007). Alguns estudos apontam as proteínas que constituem o veneno, aproximadamente 0,1%, como responsáveis por estas reações alérgicas (Baer *et al.*, 1979; Fernández-Meléndez *et al.*, 2007; Hoffman *et al.*, 1988, 2010).



**Figura 12.** O ferrão e a secreção de veneno de uma operária da formiga *Solenopsis invicta* Buren. Figura retirada de Deslippe e Guo (2000).

O veneno das formigas do gênero *Solenopsis* é constituído por alcalóides piperidínicos, piperideínicos, pirrolidínicos, pirrolínicos, indolizidínicos e pirrolizidínicos, veja Tabela 1 abaixo (Brand *et al.*, 1972; Dall’Aglío-Holvorcem *et al.*, 2009; Gorman *et al.*, 1998; Jones *et al.*, 1996; MacConnell *et al.*, 1971; Pedder *et al.*, 1976).

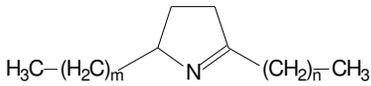
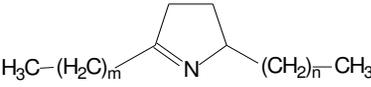
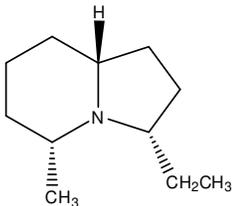
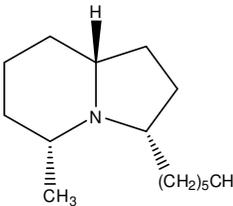
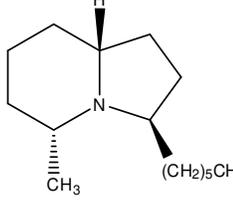
Tabela 1. Alcalóides encontrados no veneno de espécies de formigas do gênero *Solenopsis*

Entrada	Estruturas	Variação do n° de CH <sub>2</sub>	Espécies de <i>Solenopsis</i>	Referências*
<b>2-metil-6(alquil ou alquênil)piperidinas</b>				
1		n= 6 n= 8 n= 10 n= 12 n= 14 n= 16	<i>S. richteri</i> <i>S. carolinensis</i> , <i>S. richteri</i> , <i>S. (Diplorhoptrum) sp.</i> , <i>S. conjurata</i> <i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> , <i>S. pergandei</i> , <i>S. geminata</i> , <i>S. xyloni</i> , <i>S. saevissima</i> <i>S. littoralis</i> , <i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> , <i>S. xyloni</i> , <i>S. geminata</i> , <i>S. saevissima</i> <i>S. littoralis</i> , <i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> , <i>S. saevissima</i> <i>S. invicta</i>	A C, J, K, L C, D, E, F, H, I B, C, D, E, F, H, I B, D, E, F, I B, F
2		n= 8 n= 10	<i>S. carolinensis</i> , <i>S. conjurata</i> <i>S. pergandei</i>	C, L C
3		n= 11 n= 13	<i>S. invicta</i> <i>S. invicta</i>	F F
4		n= 2 n= 3 n= 5 n= 7	<i>S. richteri</i> <i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> , <i>S. xyloni</i> , <i>S. geminata</i> , <i>S. saevissima</i> <i>S. invicta</i> , <i>S. richteri</i> , <i>S. saevissima</i> <i>Solenopsis sp.</i> , <i>S. Invicta</i>	E B, C, E, F, H, I B, C, E, F, I B, C, F
5		-	<i>S. (Diplorhoptrum) sp.</i>	K

Continuação da Tabela 1

Entrada	Estruturas	Variação do n° de CH <sub>2</sub>	Espécies de <i>Solenopsis</i>	Referências*
<b>2-metil-6-(alquil ou alquênil)piperideínas</b>				
6		n= 10 n= 12 n= 14 n= 16	<i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> <i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> <i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> <i>S. invicta</i>	E, F B, E, F B, E, F B, F
7		n= 10 n= 12 n= 14	<i>S. xyloni</i> , <i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> <i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> <i>S. invicta</i>	C, E, F, H E, F F
8		n= 3 n= 5 n= 7	<i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> <i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> <i>S. invicta</i>	B, E, F B, E, F B, F
9		n= 3 n= 5 n= 7	<i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> <i>S. richteri</i> , <i>S. invicta</i> <i>S. invicta</i>	E, F E, F F
10		-	<i>S. (Diplorhoptum) sp.</i> , <i>S. (Euophthalma) sp.</i>	C
<b>2,5-dialquilpirrolidinas</b>				
11		m= 1, n= 6 m= 3, n= 4 m= 4, n= 6 m= 4, n= 5 m= 6, n= 3	<i>S. punctaticeps</i> <i>S. punctaticeps</i> <i>S. punctaticeps</i> , <i>S. fugax</i> <i>S. molesta</i> , <i>S. texanus</i> <i>S. punctaticeps</i>	G C, G C A G

Continuação da Tabela 1

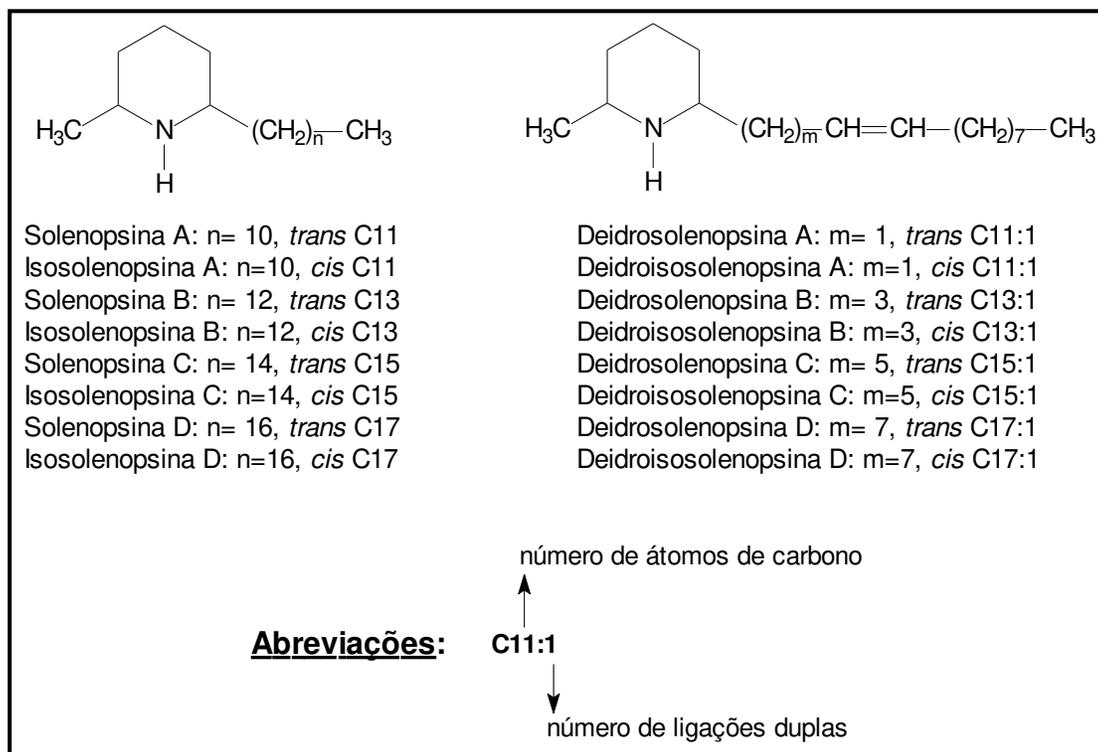
Entrada	Estruturas	Variação do n° de CH <sub>2</sub>	Espécies de <i>Solenopsis</i>	Referências*
<b>2,5-dialquil-1-pirrolinas</b>				
12		m= 1, n= 4 m= 1, n= 6	<i>S. punctaticeps</i> <i>S. punctaticeps</i>	A, G A, G
13		m= 1, n= 4 m= 1, n= 6	<i>S. punctaticeps</i> <i>S. punctaticeps</i>	A, G A, G
<b>3,5-dialquilindolizidinas</b>				
14		-	<i>S. conjurata</i>	L
15		-	<i>S. (Diplorhoptrum) sp.</i>	K, L
16		-	<i>S. (Diplorhoptrum) sp.</i>	J

Continuação da Tabela 1

Entrada	Estruturas	Varição do n° de CH <sub>2</sub>	Espécies de <i>Solenopsis</i>	Referências*
<b>3,5-dialquilindolizidinas</b>				
17		-	<i>S. (Diplorhoptrum)</i> sp.	J
18		-	<i>S. (Diplorhoptrum)</i> sp.	K
19		-	<i>S. (Diplorhoptrum)</i> sp.	K
<b>3,5-dialquilpirrolizidinas</b>				
20		-	<i>Solenopsis</i> sp.	C, M

\***Referências:** (A) Attygalle e Morgan (1984); (B) Chen *et al.* (2009a); (C) Jones *et al.* (1982); (D) Leclercq *et al.* (1994); (E) Chen e Fadamiro (2009b); (F) Chen e Fadamiro (2009c); (G) Pedder *et al.* (1976); (H) Brand *et al.* (1972); (I) Dall'Aglio-Holvorcem *et al.* (2009); (J) Gorman *et al.* (1998); (K) Jones *et al.* (1996); (L) Jones *et al.* (1984); (M) Jones *et al.* (1980).

Os alcalóides 2-metil-6-(alquil ou alquênil)piperidínicos são os constituintes principais do veneno da maior parte das espécies estudadas de *Solenopsis* (Figura 13; Tabela 1, entradas 1 a 5). Estes alcalóides por serem muito comuns em *Solenopsis* foram denominados de solenopsinas ou isosolenopsinas (Figura 13), de acordo com a configuração relativa de seus substituintes em *trans* ou *cis*, respectivamente. Quando existe uma insaturação na cadeia lateral do C-6 do anel piperidínico, estes alcalóides podem ser denominados de deidrosolenopsinas e deidroisosolenopsinas (Figura 13). Estes nomes são sempre acompanhados por letras maiúsculas (Figura 13) que representam o número de átomos de carbono da cadeia alquil ou alquênil do C-6 [A (C11), B (C13), C (C15) e D (C17)] (Chen *et al.*, 2009a; Deslippe e Guo, 2000; MacConnell, 1971).



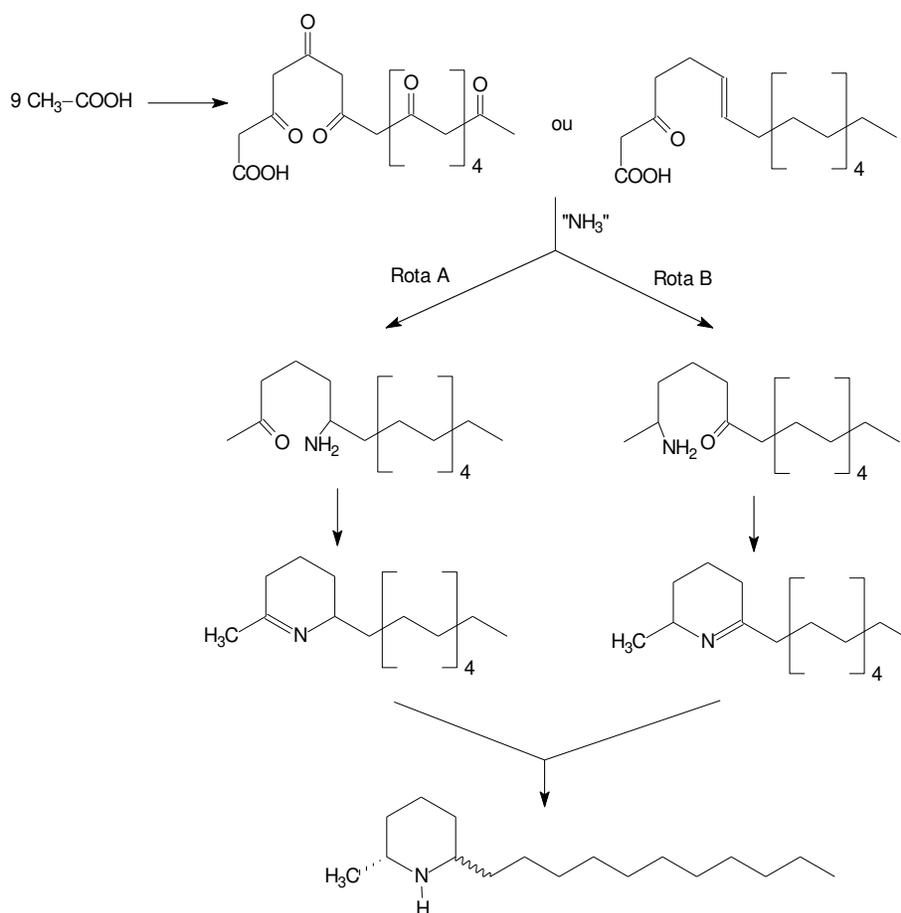
**Figura 13.** Alcalóides piperidínicos das formigas *Solenopsis*. \**Cis* e *trans* em relação à configuração relativa dos substituintes no anel piperidina. Figura modificada de Chen *et al.* (2009a).

As configurações relativas dos alcalóides 2-metil-6-alkilpiperidinas já foram avaliadas num cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (CG-IVTF), sendo possível verificar que os isômeros *cis* exibem bandas de Bohlmann significativas ( $\sim 2810\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$ ), enquanto estas bandas nos isômeros *trans* são muito pouco significativas (Garraffo *et al.*, 1994). A configuração absoluta das solenopsinas foi determinada pela primeira vez pela derivatização do grupo amina em amidas diastereoisoméricas com o cloreto do ácido (*R*)- $\alpha$ -metóxi- $\alpha$ -trifluorometil-fenil acético (MTPA-Cl), o denominado método de Mosher (Leclercq *et al.*, 1994). A configuração absoluta dos principais alcalóides *trans* foi determinada como (2*R*,6*S*), enquanto dos alcalóides *cis* era (2*R*,6*R*). Isto levou a concluir que os alcalóides das formigas *Solenopsis* eram sempre (2*R*,6*S*) e (2*R*,6*R*) (Leclercq *et al.*, 1994, 1996).

Chen e colaboradores (2009a) observaram que o veneno das operárias do Mississippi-EUA era constituído unicamente por alcalóides 2-metil-6-(alkil ou alquenil)- $\Delta^{1,2}$ -piperideínas e 2-metil-6-(alkil ou alquenil)- $\Delta^{1,6}$ -piperideínas (Tabela 1, entradas 6 a 10), diferente do observado para esta mesma espécie em outras regiões dos Estados Unidos da América (Chen *et al.*, 2009a; Chen e Fadamiro 2009c).

Segundo Leclercq e colaboradores (1996), os alcalóides piperideínicos são os últimos intermediários da rota biossintética da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas em *S. geminata* Fabricius (Esquema 1). Esta evidência biossintética foi reafirmada quando identificaram 2,6-dialquil- $\Delta^{1,2}$  e  $\Delta^{1,6}$ -piperideínas (Tabela 1, entradas 6 a 10) no veneno das formigas *S. xyloni* McCook, *S. invicta* Buren e *S. richteri* Forel (Chen *et al.*, 2009a; Chen e Fadamiro, 2009b, 2009c; Hoffman, 2010; Jones, 1982; Leclercq *et al.*, 1994, 1996). Provavelmente as formigas *S. invicta* Buren do Mississippi não

realizam a última etapa da biossíntese dos alcalóides piperidínicos devido à falta da enzima responsável pela redução do grupo imina a amina, o que levou estas formigas a produzir unicamente 2-metil-6-(alquil ou alquênil)- $\Delta^{1,2}$ -piperideínas e 2-metil-6-(alquil ou alquênil)- $\Delta^{1,6}$ -piperideínas (Tabela 1, entradas 6 a 10; Esquema 1) (Chen *et al.*, 2009a).



**Esquema 1.** Proposta biossintética para a *cis*- e a *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas em *Solenopsis geminata* Fabricius. Esquema modificado de Leclercq *et al.* (1996).

A composição química do veneno de operárias das formigas *Solenopsis* muda de uma espécie para outra, como observado em *S. invicta* Buren, *S. saevissima* Smith, *S. richteri* Forel, *S. geminata* Fabricius, *S. littoralis* Creighton, *S. xyloni* McCook, *S. carolinensis* Forel e *S. pergandei* Forel, onde os alcalóides piperidínicos variam em abundância relativa, diversidade,

comprimento e insaturação na cadeia lateral do grupo alquil no C-6, além da presença de pequenas quantidades de piperideínas. Entretanto, em outras espécies, a diferença na composição do veneno é mais marcante, por exemplo, o veneno das operárias das formigas *S. punctaticeps* Mayr é predominantemente constituído por 2,5-dialquilpirrolidinas e 2,5-dialquilpirrolinas (Tabela 1, entradas 11 a 13), enquanto o veneno das formigas *Solenopsis (Diplorhoptrum)* sp. Bolton é constituído de 3,5-dialquilindolizidinas (Tabela 1, entradas 14 a 16; Jones *et al.*, 1996; Pedder *et al.*, 1976).

A composição química do veneno de operárias e rainhas de *Solenopsis* revelou diferenças intraespecíficas, por exemplo, o estudo realizado por Jones e colaboradores (1996) com as formigas *S. (Diplorhoptrum)* sp. Bolton de Porto Rico, onde verificaram que o veneno de rainhas de *S. (Diplorhoptrum)* sp. Bolton de Cabo Rojo é constituído majoritariamente por (3*S*,5*R*,9*R*)-3-*n*-hexil-5-metilindolizidina (Tabela 1, entrada 15), enquanto o veneno das operárias possuem como componentes (3*S*,5*R*,9*R*)-3-*n*-butil-5-propilindolizidina e (3*R*,5*R*,9*R*)-3-*n*-butil-5-propilindolizidina, na razão 1:6 respectivamente (Tabela 1, entradas 18 e 19). Observaram também que o veneno de rainhas de uma colônia de *S. (Diplorhoptrum)* sp. Bolton de Mona Island (Porto Rico) possui a mesma composição da colônia de Cabo Rojo (Porto Rico), mas o veneno das operárias possuem somente *cis*- e *trans*-2-metil-6-(*Z*, 4-nonenil)piperidinas, na razão 1:4 respectivamente (Tabela 1, entrada 5), caracterizando a existência de variação intra e intercolonial da composição dos alcalóides do veneno no mesmo subgênero de *Solenopsis* (Dias, 1993; Jones *et al.*, 1996; Skvortsov, 1979).

Outros compostos empregados na quimiotaxonomia de insetos sociais são os hidrocarbonetos cuticulares relatados anteriormente no tópico sobre

comunicação química de abelhas sem ferrão (Introdução geral, seção 1.2.1, pág. 14). Entre os poucos estudos sobre os hidrocarbonetos cuticulares de formigas do gênero *Solenopsis* estão os realizados com operárias de *S. invicta* Buren dos EUA que são constituídos por *n*-heptacosano, 13-metilheptacosano, 13,15-dimetilheptacosano, 3-metilheptacosano, 3,9-dimetilheptacosano, cuja composição é diferente da *S. invicta* Buren brasileira descrita por Dall'Aglio-Holvorcem e colaboradores (2009) que possui uma mistura mais complexa com 30 hidrocarbonetos, constituída de *n*-alcanos, metil alcanos, dimetil alcanos e trimetil alcanos (Obin, 1986; Vander Meer *et al.*, 1989).

---

# **OBJETIVOS**

---



## 2. Objetivos

Este trabalho visou desvendar aspectos da comunicação química de abelhas sem ferrão e formigas lava-pés com objetivos específicos de:

- 1) Estudar a comunicação química das abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lepeletier e *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure (Hymenoptera: Apidae).
- 2) Verificar a composição química do veneno de operárias e rainhas das formigas “lava-pés” *Solenopsis saevissima* Smith (Hymenoptera: Formicidae) e a variação de estereoisômeros das solenopsinas e isosolenopsinas.



---

# CAPÍTULO 1

---



### 3. Capítulo 1 – Comunicação química das abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lepeletier e *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure (Hymenoptera: Apidae)

#### 3.1. Compostos voláteis das rainhas virgens da abelha sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae)

Experimentos com rainhas virgens de *M. quadrifasciata* (com 2 a 3 dias após emergência do favo de cria) realizados em laboratório, pelo Dr. Cristiano Menezes (FFCLRP, USP/ Ribeirão Preto-SP), demonstraram que quando uma rainha virgem ficava em frente à outra (Figura 14A), se antenavam e alongavam os abdômes com auxílio das patas traseiras (Figura 14B). Conseqüentemente, os abdômes das rainhas virgens ficavam totalmente inflados ou estendidos (Figura 14C), expondo as membranas intersegmentares, e realizavam movimentos circulatorios em volta de si mesmas, com vibrações das asas. Um odor forte exalava das rainhas nesta fase do experimento.



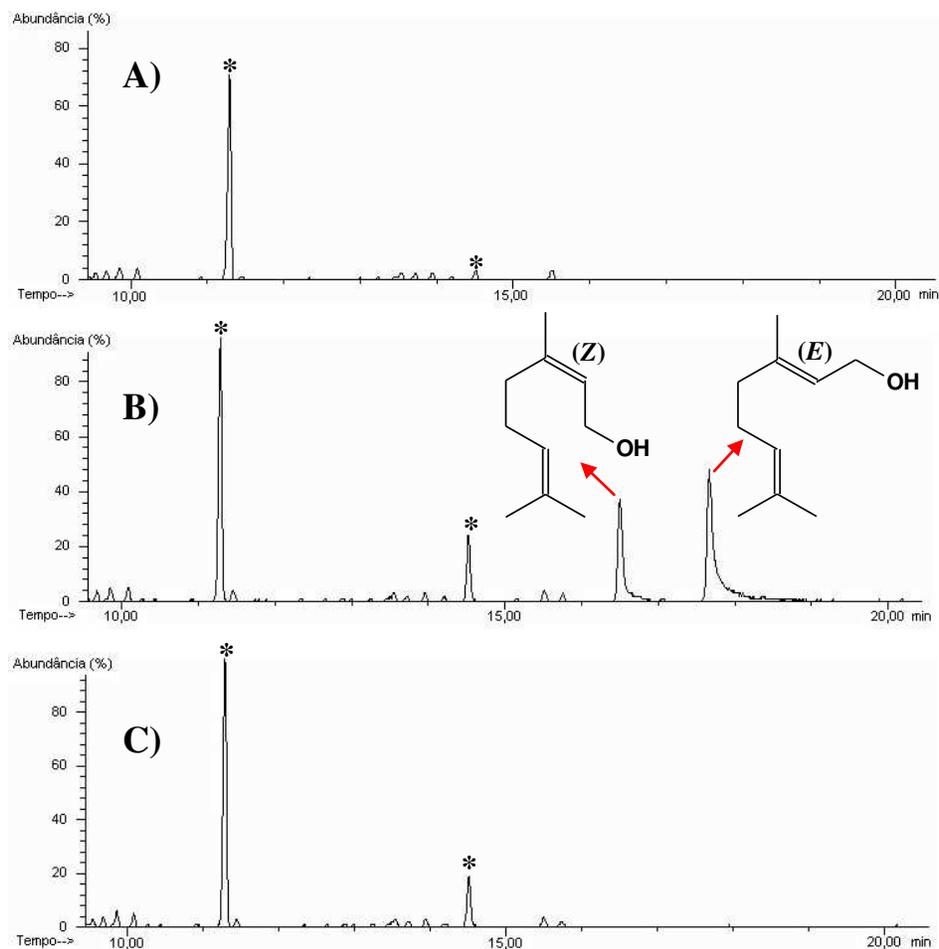
**Figura 14.** (A) Rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, com 1 dia após emergência, sem inflar o abdome; (B) rainhas virgens, com 2 a 3 dias após emergência, alongando os abdômes com auxílio das patas traseiras e (C) com os abdômes inflados. Fotos: Adriana Pianaro.

A partir destas observações, iniciou-se o estudo dos feromônios liberados pelas rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdomes inflados e a descoberta da glândula responsável pela liberação destes compostos voláteis.

### 3.1.1. Resultados e discussão

Para isso, os compostos liberados foram capturados utilizando “*headspace*” dinâmico, empregando Porapack Q, e os extratos foram analisados por CG-EM (Parte Experimental – seções 8.1 e 8.5.1.1, págs. 119 e 129).

As análises dos compostos voláteis capturados no “*headspace*” **dinâmico** revelaram que as rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdomes inflados ( $N = 6$ , com 2 a 3 dias após emergência) liberam uma mistura de nerol e geraniol, com abundância relativa na razão 1:2, respectivamente (Figuras 15A e 15B), entretanto nenhum composto volátil foi liberado pelas rainhas virgens que não inflavam o abdome ( $N = 6$ , com 1 dia após emergência; Figura 15C). A identificação destes monoterpenos foi realizada pelo estudo da fragmentação dos espectros de massas, a comparação do índice de retenção calculado com a literatura (Adams, 1995) e pela co-injeção dos extratos com padrões comerciais (Parte Experimental – seções 8.1 e 8.3, págs. 119 e 128; Tabela 2 abaixo).



**Figura 15.** Cromatogramas de íons: (A) controle – entrada de ar do sistema; (B) rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, com 2 a 3 dias após emergência e com abdômes totalmente inflados; e (C) rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, com 1 dia após emergência e que não inflavam o abdome. \*Compostos contaminantes da borracha de ligação dos tubos de Porapak Q ao sistema (bifalatos).

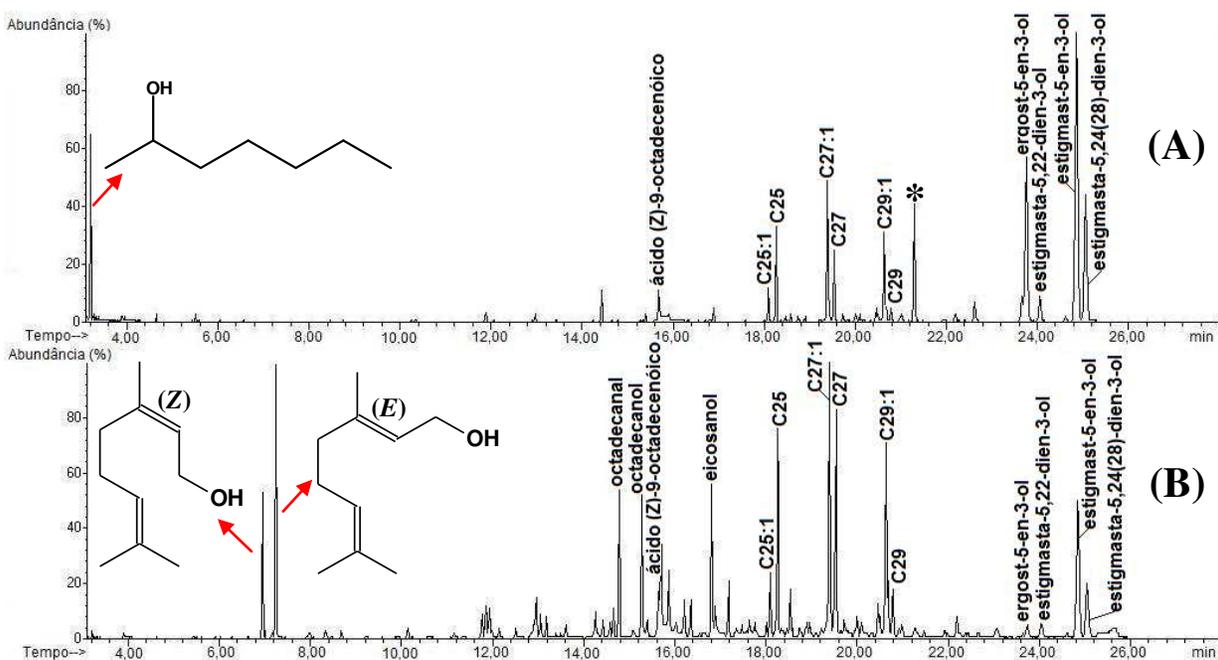
Para determinar qual seria a glândula exócrina responsável pela liberação dos feromônios comparou-se os compostos capturados no “*headspace*” com os compostos presentes nos extratos cefálicos e abdominais (Parte Experimental – seções 8.1 e 8.5.1.2, págs. 119 e 131).

Os **extratos cefálicos** (Figura 16A; Tabelas 2 e 3 abaixo) das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdômes inflados são constituídos por *n*-alcanos (6,38%; C25, C27, C28 e C29), *n*-alcenos (14,27%; C25:1, C27:1, C29:1 e C31:1), nonacosadieno (0,65%), metil alcanos (1,64%; 5-Me-C25,

11-Me-C27 e 11-Me-C29), 2-heptanol (9,88%), nonanal (0,37%), terpenos (2,93%; limoneno, acetato de farnesila - isômero 2 e um terpeno desconhecido), ácido (Z)-9-octadecenóico (1,60%) e esteróides (61,82%; colest-5-en-3-ol, ergosta-5,24-dien-3-ol, ergost-5-en-3-ol, estigmasta-5,22-dien-3-ol, estigmasta-7,25-dien-3-ol, estigmast-5-en-3-ol e estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol).

Os **extratos abdominais** (Figura 16B; Tabelas 2 e 3 abaixo) das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdômes inflados são compostos de *n*-alcanos (14,36%; C23, C25, C26, C27, C28 e C29), *n*-alcenos (13,9%; C25:1, C26:1, C27:1, C29:1 e C31:1), *n*-alcadienos (0,73%; C29:2 e C31:2), metil alcanos (1,43%; 11-Me-C25, 5-Me-C25, 11-Me-C27 e 11-Me-C29), álcoois lineares de cadeia longa (9,62%; tetradecanol, hexadecanol, octadecanol e eicosanol), aldeídos lineares de cadeia longa (6,59%; hexadecanal, octadecenal, octadecanal e eicosanal), terpenos (16,66%; nerol, isogeraniol, geraniol, ácido nérico, ácido gerânico, acetato de geranila, 8-hidroxigeraniol, 2,3-dihidrofarnesol, Z,E-farnesol, Z,Z-farnesol, acetato de farnesila – isômeros 1 e 2 e geranil-linalol), ésteres (4,17%; acetato de tetradecila, acetato de hexadecila, (Z)-9-octadecenoato de metila, acetato de octadecila e acetato de eicosanila), ácidos carboxílicos (6,99%; ácido tetradecanóico, ácido hexadecanóico, ácido octadecadienóico, ácido (Z)-9-octadecenóico e ácido octadecanóico) e esteróides (9,14%;  $\alpha$ -tocoferol, ergost-5-en-3-ol, estigmasta-5,22-dien-3-ol, estigmast-5-en-3-ol e estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol). Estas análises confirmaram a presença do nerol e do geraniol somente nos extratos abdominais (Figuras 16A e 16B; Tabelas 2 e 3), por isso as glândulas terçais e a glândula de Dufour de rainhas virgens com abdômes inflados foram dissecadas e os extratos destas glândulas foram analisados por CG-EM (Parte Experimental, seções 8.1 e 8.5.1.2, págs. 119 e 131). Todos os compostos

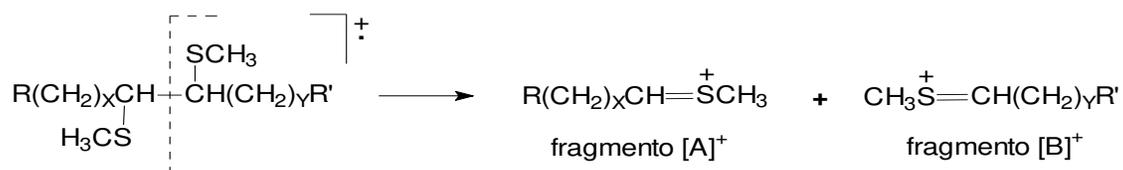
foram identificados pela comparação de seus espectros de massas com dados da biblioteca Wiley275 do CG-EM e seus índices de retenção calculados foram comparados com a literatura (Adams, 1995; Tabelas 2 e 3). Alguns compostos foram co-injetados com padrões comerciais, de acordo com a Tabela 2.



**Figura 16.** Cromatogramas de íons dos (A) extratos cefálicos e dos (B) extratos abdominais das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lapeletier com abdomes inflados. Em destaque o 2-heptanol, o nerol, o geraniol, os hidrocarbonetos majoritários (C25:1, C25, C27:1, C27, C29:1 e C29) e outros compostos. \*Terpeno desconhecido.

A determinação da posição da dupla ligação de todos os *n*-alcenos e dos *n*-alcadienos foi realizada pela derivatização dos extratos com dissulfeto de metila/iodo (DMDS/I<sub>2</sub>; Parte Experimental, seção 8.4, pág. 128) e os produtos reacionais foram analisados por CG-EM (Tabelas 2 e 3; Parte Experimental, seção 8.1, pág. 119). Nesta reação, o iodo age como catalisador da adição *anti* do DMDS na dupla ligação e no caso dos *n*-alcenos obtém um derivado DMDS com dois grupos metilsulfeto, como apresentado no Esquema 2 abaixo (Buser *et al.*, 1983; Carlson *et al.*, 1989; Vincenti *et al.*, 1987). A

fragmentação de massas dos derivados DMDS dos *n*-alcenos origina dois fragmentos de intensidade relativa alta [A]<sup>+</sup> e [B]<sup>+</sup> correspondentes a clivagem da ligação carbono-carbono dos carbonos ligados aos metilsulfetos, a soma destes dois fragmentos corresponde ao íon molecular ([M]<sup>+</sup>) (Esquema 2; Buser *et al.*, 1983; Vincenti *et al.*, 1987).



**Esquema 2.** Representação da clivagem da ligação carbono-carbono do derivado DMDS de um *n*-alcano fornecendo dois fragmentos majoritários. Esquema baseado em Buser *et al.* (1983).

Os espectros de massas dos derivados DMDS do *n*-hexacoseno e do *n*-hentriaconteno possuíam o fragmento de *m/z* 173, [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=SCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, com intensidade relativa alta, e os picos bases (100%) em *m/z* 285 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>15</sub>CH=SCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> e 355 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>20</sub>CH=SCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, respectivamente, sugerindo que a dupla ligação para estes *n*-alcenos estava localizada no C-9 (Anexos A12 e A15, pág. 179). O *n*-pentacoseno originou dois derivados DMDS com espectros de massas que possuíam os pares de fragmentos de *m/z* 145/299 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH=SCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>/ [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CH=SCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> e *m/z* 173/271 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=SCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>/ [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CH=SCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, indicando que a dupla ligação estava localizada no C-7 e no C-9, respectivamente (Anexos A2 e A11, págs. 175 e 178). Os derivados DMDS do *n*-heptacoseno e do *n*-nonacoseno revelou uma série homóloga para cada um destes *n*-alcenos. Os espectros de massas dos derivados DMDS dos *n*-heptacosenos possuíam pares de fragmentos de *m/z* 117/355 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH=SCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>/ [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>20</sub>CH=SCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, *m/z* 145/327 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH=SCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>/

$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ ,  $m/z$  173/299       $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$   
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ ,  $m/z$  187/285       $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$   
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ ,  $m/z$  201/271       $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$   
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ ,  $m/z$  215/257       $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$   
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  e  $m/z$  229/243       $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$   
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ , sugerindo que a dupla ligação estava localizada no C-5, C-7, C-9, C-10, C-11, C-12 e C-13, respectivamente (Anexos A1, A3 e A5, págs. 175-176). Os espectros de massas dos derivados DMDS dos *n*-nonacosenos possuíam pares de fragmentos de  $m/z$  145/355  
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$        $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ ,  $m/z$  173/327  
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$        $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ ,  $m/z$  187/313  
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$        $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ ,  $m/z$  201/299  
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$        $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ ,  $m/z$  215/285  
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$        $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ ,  $m/z$  229/271  
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$        $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  e  $m/z$  243/257  
 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+ /$        $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ , sugerindo que a dupla ligação estava localizada no C-5, C-7, C-9, C-10, C-11, C-12 e C-13, respectivamente (Anexos A4 e A6, págs. 175 e 177). Infelizmente, os derivados DMDS dos *n*-alcadienos não foram observados nos produtos reacionais e, por conta disto, as posições das duplas ligações não foram determinadas.

**Tabela 2.** Íons diagnósticos e índices de retenção dos compostos encontrados em rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier com abdômes inflados\*

COMPOSTOS	Íons diagnósticos - $m/z$ (abundância relativa %)	$t_R^a$	IR <sub>(calc.)</sub> <sup>a</sup>	IR <sub>(lit.)</sub> <sup>a</sup>
<b>Hidrocarbonetos</b>				
Heneicosano	296 (M <sup>+</sup> ; 4), 113 (13), 99 (23), 85 (47), 71 (72), 57 (100), 43 (65)	15,40	2100	2100
Tricosano	324 (M <sup>+</sup> ; 1), 113 (10), 99 (16), 85 (56), 71 (72), 57 (100), 43 (60)	16,89	2300	2300
7-Pentacoseno e 9-pentacoseno	350 (M <sup>+</sup> ; 5), 139 (11), 125 (25), 111 (57), 97 (100), 83 (90), 69 (71), 57 (88), 43 (72)	18,10	2476	-
Pentacosano	352 (M <sup>+</sup> ; 1), 113 (10), 99 (18), 85 (58), 71 (74), 57 (100), 43 (56)	18,26	2500	2500
11-Metilpentacosano	351 (M <sup>+</sup> -15; 2), 224 (6), 196 (11), 168 (10), 140 (14), 85 (65), 71 (80), 57 (100), 43 (59)	18,48	2533	2534
5-Metilpentacosano	351 (M <sup>+</sup> -15; 1), 309 (11), 280 (3), 99 (14), 85 (100), 71 (59), 57 (95), 43 (86)	18,58	2548	2550
9-Hexacoseno	364 (M <sup>+</sup> ; 4), 139 (9), 125 (21), 111 (56), 97 (100), 83 (79), 69 (59), 57 (78), 43 (67)	18,76	2576	-
Hexacosano	366 (M <sup>+</sup> ; 1), 113 (12), 99 (21), 85 (65), 71 (81), 57 (100), 43 (55)	18,92	2600	2600
5-Heptacoseno, 7-heptacoseno, 9-heptacoseno, 10-heptacoseno, 11-heptacoseno, 12-heptacoseno e 13-heptacoseno	378 (M <sup>+</sup> ; 12), 139 (11), 125 (26), 111 (53), 97 (100), 83 (90), 69 (69), 57 (80), 43 (63)	19,39	2676	-
Heptacosano	380 (M <sup>+</sup> ; 1), 113 (11), 99 (19), 85 (60), 71 (77), 57 (100), 43 (62)	19,54	2700	2700
11-Metilheptacosano	379 (M <sup>+</sup> -15; 1), 252 (4), 224 (6), 196 (9), 168 (13), 99 (18), 85 (62), 71 (78), 57 (100), 43 (54)	19,73	2740	2734
5-Metilheptacosano	379 (M <sup>+</sup> -15; 2), 337 (8), 99 (16), 85 (100), 71 (66), 57 (99), 43 (85)	19,84	2763	-
Octacosano	394 (M <sup>+</sup> ; 1), 113 (12), 99 (17), 85 (72), 71 (73), 57 (100), 43 (71)	20,02	2800	2800
Nonacosadieno†	404 (M <sup>+</sup> ; 11), 138 (20), 124 (23), 110 (31), 96 (100), 82 (92), 67 (67), 55 (93), 41 (48)	20,47	2858	-
7-Nonacoseno, 9-nonacoseno, 10-nonacoseno, 11-nonacoseno, 12-nonacoseno, 13-nonacoseno e 14-nonacoseno	406 (M <sup>+</sup> ; 4), 139 (10), 125 (25), 111 (55), 97 (100), 83 (89), 69 (68), 57 (75), 43 (62)	20,64	2879	-
Nonacosano	408 (M <sup>+</sup> ; 1), 113 (10), 99 (17), 85 (59), 71 (76), 57 (100), 43 (55)	20,80	2900	2900
11-Metilnonacosano	407 (M <sup>+</sup> -15; 2), 252 (8), 224 (6), 196 (12), 168 (8), 97 (20), 85 (60), 71 (79), 57 (100), 43 (52)	21,00	2927	2933
Hentriacontadieno†	432 (M <sup>+</sup> ; 4), 138 (16), 123 (26), 109 (39), 96 (100), 82 (86), 69 (60), 55 (78), 43 (52)	21,95	3048	-
9-Hentriaconteno	434 (M <sup>+</sup> ; 8), 139 (11), 125 (28), 111 (65), 97 (100), 83 (94), 69 (74), 57 (91), 43 (83)	22,21	3077	-
11-Metilhentriacontano	435 (M <sup>+</sup> -15; 1), 252 (5), 224 (5), 196 (12), 168 (4), 97 (25), 85 (61), 71 (77), 57 (100), 43 (53)	22,69	3127	3133
<b>Alcoois</b>				
(S)-2-heptanol**	115 (M <sup>+</sup> -1; 1), 101 (4), 83 (12), 70 (7), 55 (19), 45 (100)	3,20	909	-
Tetradecanol**	168 (M <sup>+</sup> -46; 3), 140 (5), 125 (12), 111 (31), 97 (58), 83 (100), 69 (88), 55 (88), 41 (62)	11,77	1676	-
Hexadecanol**	196 (M <sup>+</sup> -46; 4), 168 (4), 125 (17), 111 (45), 97 (82), 83 (100), 69 (90), 55 (93), 43 (72)	13,61	1880	-
Octadecanol**	252 (M <sup>+</sup> -18; 1), 224 (3), 196 (2), 168 (2), 125 (20), 111 (47), 97 (88), 83 (100), 69 (80), 55 (78), 43 (61)	15,28	2085	-
Eicosanol**	280 (M <sup>+</sup> -18; 1), 252 (2), 224 (1), 168 (2), 125 (24), 111 (52), 97 (91), 83 (100), 69 (81), 55 (77), 43 (61)	16,80	2288	-
<b>Aldeídos</b>				
Nonanal	114 (M <sup>+</sup> -28; 10), 98 (33), 95 (37), 82 (37), 70 (46), 57 (100), 41 (75)	5,50	1107	1108
Hexadecanal	222 (M <sup>+</sup> -18; 2), 194 (5), 166 (4), 151 (3), 137 (8), 123 (17), 109 (24), 96 (66), 82 (100), 68 (56), 57 (93), 43 (76)	13,06	1817	1819
Octadecenal	248 (M <sup>+</sup> -18; 8), 149 (7), 135 (17), 121 (33), 111 (36), 98 (58), 81 (63), 69 (80), 55 (100), 41 (76)	14,59	1998	-
Octadecanal	268 (M <sup>+</sup> ; 1), 250 (3), 222 (5), 137 (9), 123 (15), 109 (23), 96 (68), 82 (100), 68 (49), 57 (77), 43 (63)	14,79	2023	2021
Eicosanal	278 (M <sup>+</sup> -18; 4), 250 (5), 222 (2), 137 (10), 123 (14), 109 (23), 96 (70), 82 (100), 68 (48), 57 (74), 43 (65)	16,35	2226	2224
<b>Terpenos</b>				
Limoneno	136 (M <sup>+</sup> ; 23), 121 (30), 107 (25), 93 (82), 79 (39), 68 (100), 53 (19), 41 (23)	4,65	1037	1036

Continuação da Tabela 2

COMPOSTOS	Íons diagnósticos - <i>m/z</i> (abundância relativa %)	<i>t<sub>R</sub></i> <sup>a</sup>	IR <sub>(calc.)</sub> <sup>a</sup>	IR <sub>(lit.)</sub> <sup>a</sup>
<b>Terpenos</b>				
Nerol**	154 (M <sup>+</sup> ; 1), 139 (6), 121 (12), 93 (31), 84 (20), 69 (100), 41 (65)	6,95	1226	1228
Isogeraniol	154 (M <sup>+</sup> ; 15), 139 (12), 121 (100), 109 (81), 93 (72), 81 (77), 67 (74), 55 (40), 41 (70)	6,99	1230	-
Geraniol**	154 (M <sup>+</sup> ; 1), 139 (5), 123 (18), 93 (16), 84 (11), 69 (100), 41 (51)	7,25	1252	1255
Ácido nérico	168 (M <sup>+</sup> ; 4), 150 (3), 123 (17), 100 (29), 82 (11), 69 (100), 41 (46)	8,00	1316	-
Ácido gerânico	168 (M <sup>+</sup> ; 1), 150 (1), 123 (17), 100 (22), 82 (9), 69 (100), 41 (43)	8,35	1347	-
Acetato de geranila	154 (M <sup>+</sup> -42; 2), 136 (14), 121 (25), 107 (8), 93 (31), 80 (13), 69 (100), 43 (45)	8,69	1377	1383
8-Hidroxigeraniol	137 (M <sup>+</sup> -33; 12), 121 (23), 109 (14), 94 (22), 84 (47), 68 (89), 43 (100)	10,15	1513	-
2,3-Dihidrofarnesol	224 (M <sup>+</sup> ; 1), 181 (19), 163 (11), 123 (49), 109 (16), 95 (47), 81 (67), 69 (100), 55 (22), 41 (43)	11,87	1686	-
Z,E-farnesol	222 (M <sup>+</sup> ; 1), 204 (1), 189 (3), 161 (7), 136 (8), 123 (10), 107 (16), 93 (35), 81 (32), 69 (100), 55 (14), 41 (41)	11,94	1693	1697
Z,Z-farnesol	161 (M <sup>+</sup> -61; 4), 136 (13), 123 (11), 107 (14), 93 (21), 81 (34), 69 (100), 55 (17), 41 (42)	12,14	1714	1713
Acetato de farnesila - isômero 1	264 (M <sup>+</sup> ; 1), 204 (2), 189 (7), 161 (8), 136 (25), 121 (20), 107 (26), 93 (40), 81 (35), 69 (100), 55 (10), 41 (33)	13,19	1832	-
Acetato de farnesila - isômero 2	204 (M <sup>+</sup> -60; 4), 189 (10), 161 (15), 136 (14), 121 (19), 107 (35), 93 (70), 81 (38), 69 (100), 55 (12), 41 (37)	14,43	1978	-
Geranil-linalol	291 (M <sup>+</sup> -1; 1), 272 (2), 257 (3), 229 (4), 136 (18), 121 (23), 107 (26), 93 (42), 81 (55), 69 (100), 57 (23), 43 (33)	18,03	2466	-
Terpeno desconhecido	237 (39), 219 (3), 204 (2), 195 (4), 181 (10), 177 (10), 163 (4), 149 (4), 137 (10), 121 (13), 109 (21), 95 (17), 81 (35), 69 (100), 55 (6), 41 (18)	21,30	2968	-
<b>Ésteres</b>				
Acetato de tetradecila***	196 (M <sup>+</sup> -60; 3), 189 (2), 168 (7), 125 (11), 111 (26), 97 (51), 83 (53), 55 (49), 43 (100)	12,96	1806	1811
Acetato de hexadecila***	224 (M <sup>+</sup> -60; 3), 196 (4), 168 (2), 140 (4), 125 (12), 111 (34), 97 (63), 83 (69), 55 (57), 43 (100)	14,65	2005	2009
(Z)-9-octadecenoato de metila***	296 (M <sup>+</sup> ; 4), 264 (21), 222 (12), 180 (12), 123 (20) 111 (32), 97 (59), 83 (65), 69 (77), 55 (100), 43 (92)	15,39	2099	-
Acetato de octadecila***	252 (M <sup>+</sup> -60; 2), 224 (3), 196 (1), 125 (15), 111 (36), 97 (72), 83 (75), 69 (65), 55 (62), 43 (100)	16,21	2207	2210
Acetato de eicosanila***	280 (M <sup>+</sup> -60; 2), 252 (3), 125 (19), 111 (38), 97 (74), 83 (76), 69 (71), 55 (69), 43 (100)	17,64	2407	-
<b>Ácidos carboxílicos</b>				
Ácido tetradecanóico	228 (M <sup>+</sup> ; 15), 199 (6), 185 (38), 171 (12), 143 (13), 129 (57), 115 (16), 73 (100), 60 (83), 43 (57)	12,51	1756	1768
Ácido hexadecanóico	256 (M <sup>+</sup> ; 19), 213 (26), 185 (16), 129 (44), 85 (22), 73 (100), 60 (77), 55 (44), 43 (51)	14,26	1958	-
Ácido octadecadienóico	280 (M <sup>+</sup> ; 9), 122 (12), 109 (25), 95 (68), 81 (91), 67 (100), 55 (56), 41 (46)	15,64	2132	-
Ácido (Z)-9-octadecenóico	282 (M <sup>+</sup> ; 1), 264 (7), 222 (8), 121 (15), 108 (36), 95 (60), 79 (100), 67 (79), 55 (86), 41 (67)	15,69	2138	2141
Ácido octadecanóico	284 (M <sup>+</sup> ; 27), 241 (21), 185 (27), 129 (49), 115 (13), 97 (22), 83 (22), 73 (100), 60 (73), 43 (57)	15,86	2161	2172
<b>Esteróides</b>				
Colect-5-en-3-ol	386 (M <sup>+</sup> ; 100), 368 (43), 353 (43), 301 (63), 275 (61), 213 (58), 145 (76), 107 (74), 95 (72), 81 (61), 67 (33), 55 (61), 43 (78)	22,63	3121	-
α-Tocoferol	430 (M <sup>+</sup> ; 67), 386 (14), 368 (8), 275 (16), 205 (12), 165 (100), 85 (18), 71 (20), 57 (30), 43 (27)	22,67	3125	-
Ergosta-5,24-dien-3-ol	398 (M <sup>+</sup> ; 7), 383 (9), 365 (7), 314 (100), 299 (37), 281 (35), 271 (64), 229 (38), 213 (30), 91 (39), 79 (39), 69 (39), 55 (51), 41 (26)	23,67	3216	-
Ergost-5-en-3-ol	400 (M <sup>+</sup> ; 100), 385 (38), 382 (44), 367 (40), 315 (71), 289 (71), 213 (63), 145 (77), 107 (78), 95 (66), 81 (61), 55 (54), 43 (90)	23,77	3224	-
Estigmasta-5,22-dien-3-ol	412 (M <sup>+</sup> ; 62), 397 (7), 379 (10), 351 (24), 300 (35), 271 (61), 255 (63), 213 (38), 159 (64), 97 (60), 83 (90), 69 (61), 55 (100), 43 (38)	24,07	3248	-
Estigmasta-7,25-dien-3-ol	412 (M <sup>+</sup> ; 100), 397 (33), 379 (28), 299 (77), 271 (86), 213 (39), 95 (95), 81 (77), 69 (98), 55 (84), 41 (38)	24,65	3293	-
Estigmast-5-en-3-ol	414 (M <sup>+</sup> ; 100), 399 (40), 396 (45), 381 (37), 354 (11), 329 (62), 303 (57), 255 (44), 213 (60), 95 (53), 81 (49), 69 (33), 55 (42), 43 (64)	24,89	3310	-
Estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol	412 (M <sup>+</sup> ; 4), 397 (2), 379 (1), 314 (100), 299 (27), 281 (37), 229 (35), 213 (15), 105 (19), 95 (18), 81 (18), 69 (22), 55 (35), 41 (11)	25,08	3322	-

\*N = 1, em triplicata. \*\*Estes compostos foram confirmados com padrões comerciais. \*\*\*Estes compostos foram sintetizados.

<sup>a</sup>t<sub>R</sub> = tempo de retenção (min); IR (calc.) = índice de retenção calculado (Van den Dool e Kratz, 1963); IR (lit.) = índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

†As posições das duplas ligações não foram determinadas para estes alcadienos.

**Tabela 3.** Composição química dos extratos epicuticulares, cefálicos, abdominais, das glândulas terçais e da glândula de Dufour das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier com abdômes inflados

COMPOSTOS	EXTRATOS EPICUTICULARES*	EXTRATOS CEFÁLICOS*	EXTRATOS ABDOMINAIS*	GLÂNDULAS TERÇAIS*	GLÂNDULA DE DUFOUR*
<b>Hidrocarbonetos</b>					
Heneicosano	0,59 ± 0,12	-	-	-	-
Tricosano	3,66 ± 1,85	-	1,22 ± 0,46	3,27 ± 1,87	3,33 ± 1,73
7-Pentacoseno e 9-pentacoseno	6,90 ± 1,67	3,89 ± 2,10	3,17 ± 2,49	9,04 ± 2,20	20,16 ± 0,78
Pentacosano	12,55 ± 1,66	2,99 ± 0,88	4,79 ± 1,78	6,99 ± 2,56	15,15 ± 0,59
11-Metilpentacosano	1,48 ± 0,32	-	0,32 ± 0,03	2,24 ± 0,59	1,40 ± 0,57
5-Metilpentacosano	1,61 ± 0,41	0,41 ± 0,18	0,39 ± 0,07	1,89 ± 0,77	1,26 ± 0,36
9-Hexacoseno	1,44 ± 0,13	-	0,27 ± 0,16	1,40 ± 0,56	-
Hexacosano	0,92 ± 0,10	-	0,30 ± 0,14	0,64 ± 0,40	-
5-Heptacoseno, 7-heptacoseno, 9-heptacoseno, 10-heptacoseno, 11-heptacoseno, 12-heptacoseno e 13-heptacoseno	18,34 ± 2,68	5,67 ± 1,73	5,75 ± 2,61	11,58 ± 1,36	38,54 ± 3,53
Heptacosano	9,79 ± 1,50	2,23 ± 0,91	6,63 ± 0,70	4,66 ± 2,18	7,22 ± 0,45
11-Metilheptacosano	1,81 ± 0,40	0,38 ± 0,20	0,45 ± 0,17	1,96 ± 0,53	2,40 ± 0,58
5-Metilheptacosano	0,64 ± 0,00	-	-	0,48 ± 0,22	-
Octacosano	2,70 ± 0,39	0,68 ± 0,19	0,37 ± 0,26	-	-
Nonacosadieno†	1,72 ± 1,46	0,65 ± 0,06	0,52 ± 0,45	0,63 ± 0,12	-
7-Nonacoseno, 9-nonacoseno, 10-nonacoseno, 11-nonacoseno, 12-nonacoseno, 13-nonacoseno e 14-nonacoseno	17,18 ± 1,41	4,27 ± 0,55	4,10 ± 2,18	4,49 ± 0,10	10,54 ± 2,87
Nonacosano	2,00 ± 0,60	0,48 ± 0,39	1,05 ± 0,39	-	-
11-Metilnonacosano	1,07 ± 0,79	0,85 ± 0,18	0,27 ± 0,15	1,23 ± 0,30	-
Hentriacontadieno†	-	-	0,21 ± 0,01	-	-
9-Hentriaconteno	2,49 ± 0,65	0,44 ± 0,01	0,61 ± 0,01	0,54 ± 0,25	-
11-Metilhentriacontano	0,60 ± 0,03	-	-	-	-
<b>Álcoois</b>					
(S)-2-heptanol	-	9,88 ± 6,23	-	-	-
Tetradecanol	-	-	0,55 ± 0,07	-	-
Hexadecanol	-	-	0,48 ± 0,13	-	-
Octadecanol	-	-	4,33 ± 1,31	0,95 ± 0,39	-
Eicosanol	-	-	4,26 ± 0,85	-	-
<b>Aldeídos</b>					
Nonanal	-	0,37 ± 0,23	-	-	-
Hexadecanal	-	-	0,83 ± 0,22	0,37 ± 0,04	-
Octadecanal	-	-	0,41 ± 0,03	-	-
Octadecanal	-	-	4,38 ± 0,74	1,43 ± 0,28	-
Eicosanal	-	-	0,97 ± 0,17	-	-
<b>Terpenos</b>					
Limoneno	0,15 ± 0,12	0,32 ± 0,22	-	-	-
Nerol	-	-	3,82 ± 1,15	0,30 ± 0,14	-
Isogeraniol	-	-	0,18 ± 0,05	-	-
Geraniol	-	-	8,42 ± 2,50	0,63 ± 0,18	-
Ácido nérico	-	-	0,14 ± 0,07	-	-
Ácido gerânico	-	-	0,21 ± 0,08	-	-
Acetato de geranila	-	-	0,30 ± 0,15	0,14 ± 0,06	-
8-Hidroxigeraniol	-	-	0,17 ± 0,13	-	-
2,3-Dihidrofarnesol	-	-	0,80 ± 0,40	-	-
Z,E-farnesol	-	-	0,82 ± 0,49	-	-
Z,Z-farnesol	-	-	0,23 ± 0,04	-	-
Acetato de farnesila – isômero 1	-	-	0,57 ± 0,14	0,21 ± 0,01	-
Acetato de farnesila – isômero 2	-	1,39 ± 0,01	0,54 ± 0,10	0,32 ± 0,03	-
Geranil-linalol	1,27 ± 0,63	-	0,46 ± 0,29	3,00 ± 0,83	-

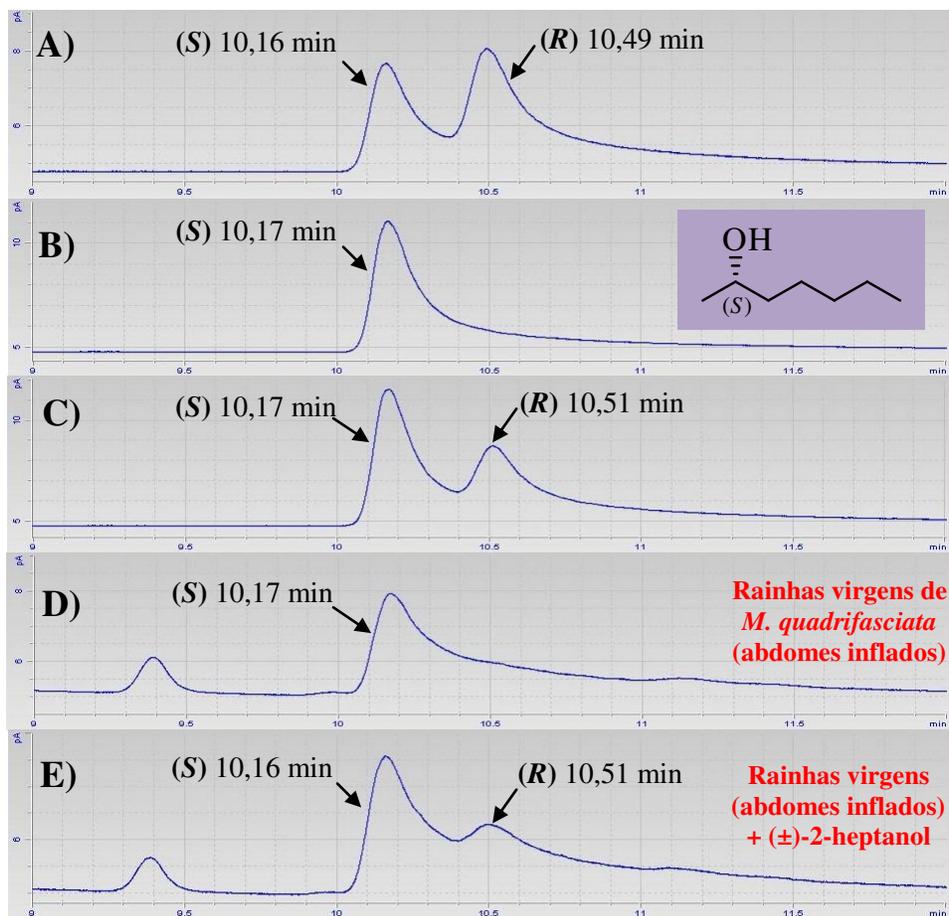
Continuação da Tabela 3

COMPOSTOS	EXTRATOS EPICUTICULARES*	EXTRATOS CEFÁLICOS*	EXTRATOS ABDOMINAIS*	GLÂNDULAS TERGAIS*	GLÂNDULA DE DUFOUR*
<b>Terpenos</b>					
Terpeno desconhecido	-	1,22 ± 0,44	-	-	-
<b>Ésteres</b>					
Acetato de tetradecila	-	-	1,33 ± 0,24	0,69 ± 0,10	-
Acetato de hexadecila	-	-	0,87 ± 0,15	0,44 ± 0,19	-
(Z)-9-octadecenoato de metila	-	-	0,50 ± 0,37	-	-
Acetato de octadecila	-	-	1,06 ± 0,10	0,81 ± 0,16	-
Acetato de eicosanila	-	-	0,41 ± 0,04	0,51 ± 0,20	-
<b>Ácidos carboxílicos</b>					
Ácido tetradecanóico	-	-	0,26 ± 0,04	0,35 ± 0,08	-
Ácido hexadecanóico	-	-	0,67 ± 0,20	0,91 ± 0,49	-
Ácido octadecadienóico	-	-	0,94 ± 0,63	4,65 ± 0,29	-
Ácido (Z)-9-octadecenóico	-	1,60 ± 0,01	3,47 ± 1,80	9,11 ± 7,33	-
Ácido octadecanóico	-	-	1,65 ± 0,83	5,20 ± 4,08	-
<b>Esteróides</b>					
Colest-5-en-3-ol	-	1,66 ± 0,27	-	-	-
α-Tocoferol	-	-	0,21 ± 0,01	-	-
Ergosta-5,24-dien-3-ol	-	2,04 ± 0,14	-	-	-
Ergost-5-en-3-ol	-	12,07 ± 0,08	0,45 ± 0,29	-	-
Estigmasta-5,22-dien-3-ol	-	2,05 ± 0,21	0,51 ± 0,34	-	-
Estigmasta-7,25-dien-3-ol	-	0,53 ± 0,03	-	-	-
Estigmast-5-en-3-ol	-	27,85 ± 3,83	5,58 ± 2,64	1,42 ± 0,76	-
Estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol	-	15,62 ± 2,23	2,39 ± 0,74	1,33 ± 0,47	-
<b>Compostos desconhecidos</b>					
Total	11,09 ± 2,55	0,46 ± 0,06	16,41 ± 6,62	16,19 ± 4,40	-

\*N = 1, em triplicata para cada extrato. Os dados são a média ± o desvio padrão das abundâncias relativas de cada composto, de acordo com a porcentagem do tamanho da área do pico. (-) = Não encontrados.

†As posições das duplas ligações não foram determinadas para estes alcadienos.

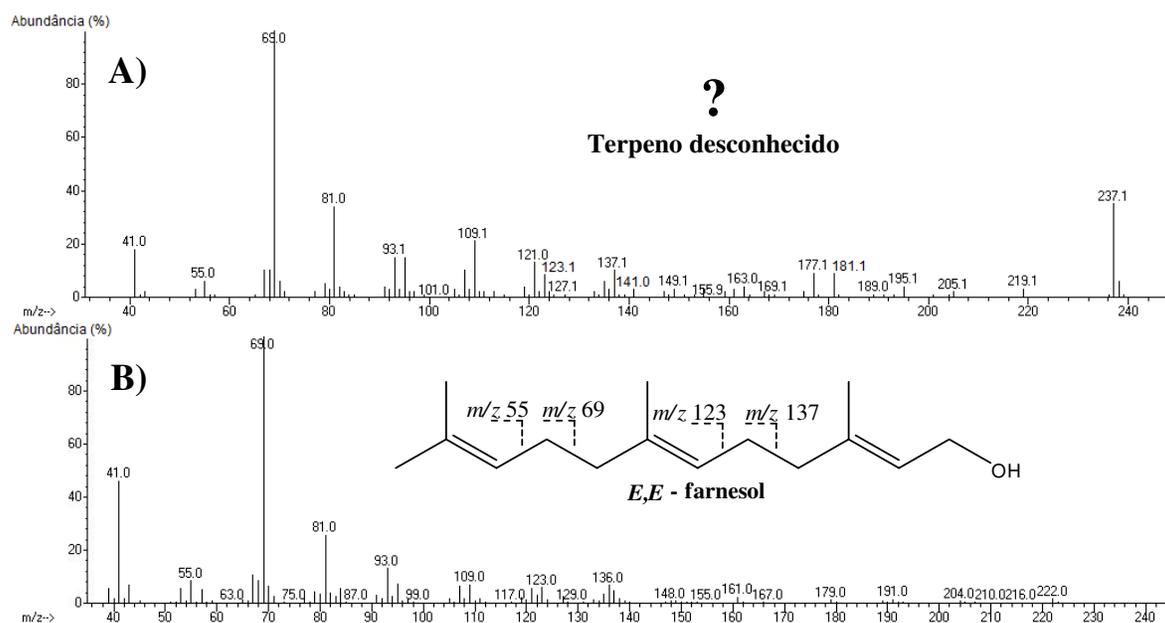
A configuração absoluta do 2-heptanol dos extratos cefálicos das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdômes inflados foi determinada através de análises por CG-DIC empregando a coluna capilar quiral Lipodex-E. As condições cromatográficas adequadas para a separação dos enantiômeros foram alcançadas utilizando o padrão (±)-2-heptanol comercial e a identificação do tempo de retenção de cada enantiômero foi obtida co-injetando a mistura racêmica com (S)-2-heptanol (Figuras 17A-E; Parte Experimental, págs. 120-123). A análise do extrato cefálico nas mesmas condições cromatográficas, e também a co-injeção do extrato com o padrão (±)-2-heptanol comercial, permitiu confirmar a configuração absoluta (S) para o 2-heptanol presente no extrato cefálico das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata*.



**Figura 17.** Configuração absoluta do 2-heptanol dos extratos cefálicos das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier com abdômes inflados (2-3 dias após emergência) determinada por CG-DIC com a coluna quiral Lipodex-E (28 m x 0,25mm x 0,25  $\mu$ m): (A) ( $\pm$ )-2-heptanol comercial; (B) (*S*)-2-heptanol comercial; (C) mistura 2:1 do ( $\pm$ )-2-heptanol e do (*S*)-2-heptanol comerciais, respectivamente; (D) 2-heptanol dos extratos cefálicos; e (E) mistura 4:1 do 2-heptanol dos extratos cefálicos e do ( $\pm$ )-2-heptanol comercial, respectivamente.

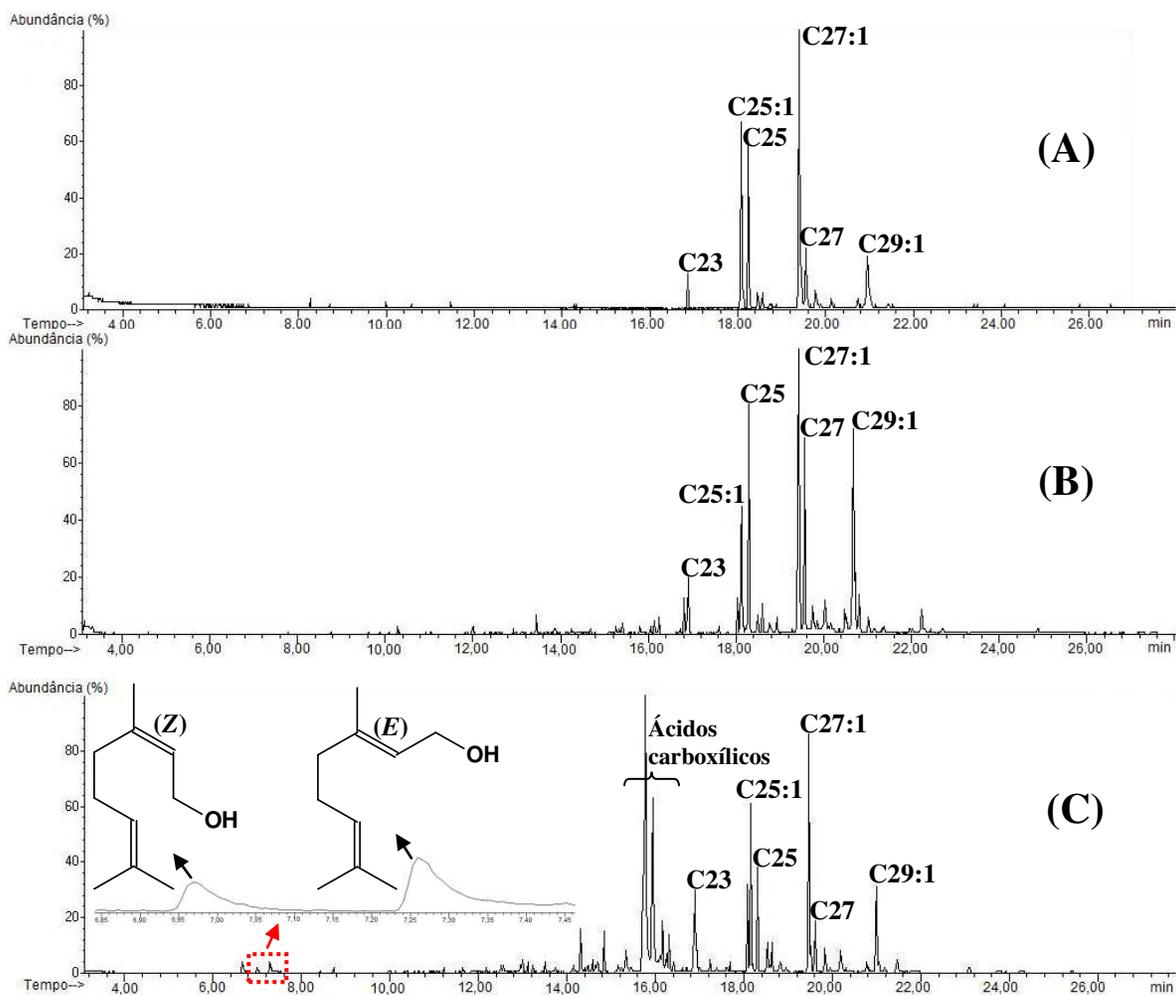
Um composto de estrutura desconhecida foi encontrado nos extratos cefálicos (Figura 16A, Tabelas 2 e 3) das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdômes inflados. De acordo com a fragmentação de seu espectro de massas (Figura 18A) em comparação com o espectro de massas do *E,E*-farnesol da biblioteca Wiley275 do CG-EM, verificou-se que este composto possui fragmentos de massas ( $m/z$  55, 69 – pico base, 81, 93, 109, 123, 137) característicos de um sesquiterpeno (Figura 18B), além disso o que também

chama atenção é o valor de seu índice de retenção, IR (calculado) de 2968 (Tabela 2 acima), sugerindo que se trata de um terpeno com aproximadamente 30 carbonos.



**Figura 18.** Espectros de massas do (A) terpeno desconhecido das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier e do (B) *E,E*-farnesol ( $M^+$ : 222), obtido da biblioteca Wiley275 do CG-EM.

Os **extratos das glândulas de Dufour** (Figura 19A; Tabelas 2 e 3) das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdômes inflados são constituídos somente por hidrocarbonetos: *n*-alcanos (25,7%; C23, C25 e C27), *n*-alcenos (69,24%; C25:1, C27:1 e C29:1) e metil alcanos (5,06%; 11-Me-C25, 5-Me-C25 e 11-Me-C27), os quais possuem os mesmos componentes majoritários dos extratos dos **hidrocarbonetos epicuticulares** (Figura 19B; Tabelas 2 e 3) a saber : *n*-alcanos (32,21%; C21, C23, C25, C26, C27, C28 e C29), *n*-alcenos (46,35%; C25:1, C26:1, C27:1, C29:1 e C31:1), metil alcanos (7,21%; 11-Me-C25, 5-Me-C25, 11-Me-C27, 5-Me-C27, 11-Me-C29 e 11-Me-C31), nonacosadieno (1,72%) e terpenos (1,42%; limoneno e geranyl-linalol).



**Figura 19.** Cromatogramas de íons das (A) glândula de Dufour, (B) hidrocarbonetos epicuticulares e (C) glândulas terçais das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier com abdômes inflados. Em destaque o nerol, o geraniol e os hidrocarbonetos majoritários (C23, C25:1, C25, C27:1, C27 e C29:1).

Os extratos das glândulas terçais (Figura 19C; Tabelas 2 e 3) das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdômes inflados consistem de *n*-alcanos (15,56%; C23, C25, C26 e C27), *n*-9-alcenos (27,05%; C25:1, C26:1, C27:1, C29:1 e C31:1), metil alcanos (7,8%; 11-Me-C25, 5-Me-C25, 11-Me-C27, 5-Me-C27 e 11-Me-C29), nonacosadieno (0,63%), octadecanol (0,95%), aldeídos lineares de cadeia longa (1,8%; hexadecanal e octadecanal), terpenos (4,6%; nerol, geraniol, acetato de geranila, acetato de farnesila – isômeros 1 e 2 e geraniol-linalol), acetatos de cadeia longa (2,45%; acetato de tetradecila,

acetato de hexadecila, acetato de octadecila e acetato de eicosanila), ácidos carboxílicos (20,22%; ácido tetradecanóico, ácido hexadecanóico, ácido octadecadienóico, ácido (Z)-9-octadecenóico e ácido octadecanóico) e esteróides (2,75%; estigmast-5-en-3-ol e estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol). Estas análises confirmaram a presença de nerol e geraniol nas glândulas terçais, na mesma razão 1:2 (Tabela 2) observada nas análises dos voláteis coletados por “*headspace*” dinâmico (Figuras 15 e 19C) destas rainhas virgens.

A quantificação do nerol/geraniol das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* foi realizada após determinação do fator de resposta do espectrômetro de massas aos terpenos empregando a fórmula de Dietz (Parte Experimental, seção 8.5.1.3, pág. 132; Raffa e Steffek, 1988). A quantificação da mistura nerol/geraniol (na razão 1:2, respectivamente) nos extratos de “*headspace*” das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* verificou que em média 0,93  $\mu\text{g}$  da mistura nerol/geraniol foram liberados por rainha virgem ( $N = 6$ ) durante 30 min e que em média 2,32  $\mu\text{g}$  da mistura geraniol/nerol (na razão 1:2, respectivamente) estavam presentes no extrato do abdome de cada rainha virgem ( $N = 3$ ). Estes resultados auxiliarão em testes biológicos futuros com esta espécie.

Os experimentos em laboratório com as rainhas virgens de *M. quadrifasciata* evidenciaram fatos inéditos não observados em outros trabalhos com espécies de *Melipona* (Koedam *et al.*, 1995; Van Veen *et al.*, 1999), pois sempre era observado a inflação do abdome das rainhas virgens frente as operárias e não entre rainhas virgens. Portanto, este comportamento demonstrou claramente que existe uma competição territorial entre as rainhas virgens de *M. quadrifasciata*.

As rainhas virgens de *M. quadrifasciata* inflam o abdome liberando nerol e geraniol, produzidos pelas glândulas terçais (Figuras 15 e 19C; Tabela

2), e com a realização de movimentos circulares e bater de asas proporciona uma maior evaporação dos monoterpenos, o que é evidenciado pelo odor forte no ninho quando existe uma grande quantidade destas rainhas. Este é o primeiro relato de terpenos liberados por rainhas virgens com abdômes inflados em abelhas sem ferrão do gênero *Melipona* (Imperatriz-Fonseca e Zucchi, 1995; Koedam *et al.*, 1995; Van Veen *et al.*, 1999).

A execução de rainhas virgens pelas operárias de *Melipona* é relatada como consequência do excesso de rainhas produzidas pela colônia (Wenseleers *et al.*, 2004). Possivelmente, um grande número de rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdômes inflados, exalando os monoterpenos, deve perturbar os quimiorreceptores das operárias do ninho e estimular a execução das rainhas virgens. Isto foi evidenciado em um experimento preliminar realizado pelo Dr. Cristiano Menezes que observou que os monoterpenos (nerol/geraniol na razão 1:2, respectivamente) aplicados em um fantoche (uma operária morta do ninho) fizeram as operárias agarrarem e cortarem a cabeça do fantoche (trabalho não publicado). Estes dados observados em nosso estudo com *M. quadrifasciata* é contrário ao relatado recentemente por Jarau e colaboradores (2009) ao estudar a execução das rainhas virgens de *M. beecheii* pelas operárias, pois estes autores propõem não ser um estímulo químico que origina o ataque das operárias nesta espécie de *Melipona*, mas o ambiente conspícuo (Jarau *et al.*, 2009), incluindo sons e vibrações que são produzidos pela corrida e bater de asas das rainhas (neste trabalho não relatam nenhum estudo químico).

Uma investigação recente realizada por Jarau e colaboradores (2010b) demonstrou que o geraniol age como um componente determinante de casta, sendo produzido pelas glândulas labiais de operárias enfermeiras de *M. beecheii*. Quando as larvas de *M. beecheii* são alimentadas com um alimento

enriquecido com 10  $\mu\text{g}$  de geraniol ocorre um aumento na produção de rainhas (25% das larvas se tornam rainhas, sendo que a proporção normal é tipicamente menor que este valor). Este dado chama atenção em relação aos nossos resultados (Jarau *et al.*, 2010b), mostrando como o geraniol é importante para as abelhas sem ferrão do gênero *Melipona* na escolha e formação de suas rainhas.

Outro fato interessante é dos apicultores (criadores de abelhas do gênero *Apis*) utilizarem a mistura de óleo de capim-limão com cera de abelha em caixas-iscas para capturar enxames de *Apis* que estão procurando um novo local para formar um ninho (Leopoldino *et al.*, 2002). O geraniol é um dos constituintes do óleo das várias espécies de capim-limão (*Cymbopogon* spp.), como também do óleo de rosas e de gerânio (Baydar, 2006; Jirovetz *et al.*, 2006; Rajeswara Rao *et al.*, 2005; Rana *et al.*, 2002). Isto evidencia mais um uso deste monoterpene entre as abelhas.

### **3.2. Compostos voláteis das rainhas virgens *in vitro*, rainhas fisogástricas e machos da abelha sem ferrão *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure (Hymenoptera: Apidae)**

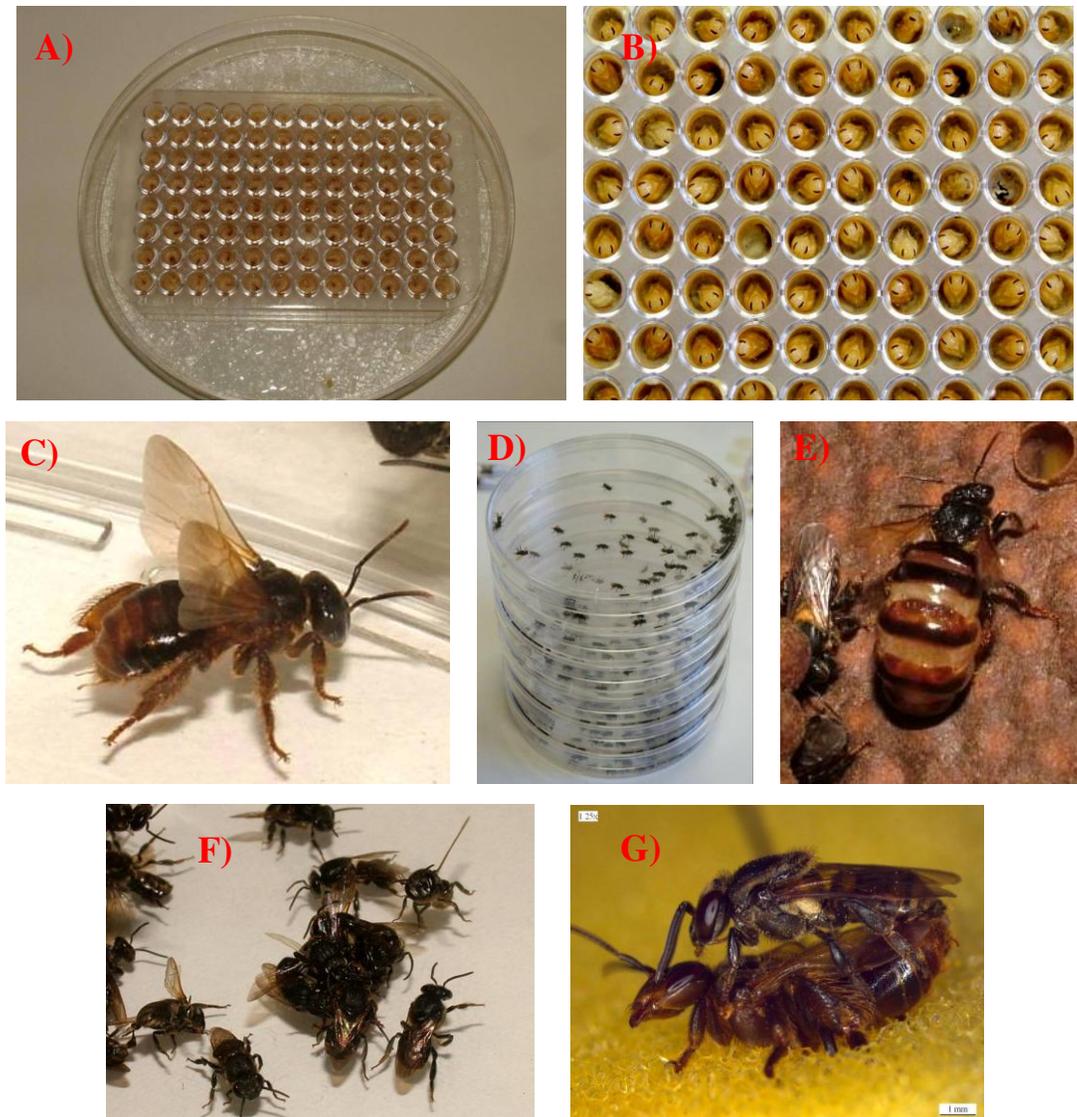
Testes de atratividade com rainhas virgens *in vitro*<sup>17</sup> de *S. aff. depilis* ( $N = 20$ , 10-14 dias após emergência; Figuras 20A-C) foram realizados em laboratório, pelo Dr. Cristiano Menezes (FFCLRP, USP/ Ribeirão Preto-SP), onde as rainhas virgens *in vitro* foram colocadas individualmente em uma placa de Petri (Corning, 150 x 30 mm) que continha machos de *S. aff. depilis*

---

<sup>17</sup> Rainhas produzidas utilizando a técnica descrita por Camargo (1972), mais detalhes ver Menezes (2010).

( $N = 30$ ; Figura 20D). Após 10 min de observação, verificou-se nenhuma resposta dos machos frente a cada uma das rainhas virgens testadas.

Alternativamente, rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* ( $N = 10$ ; Figura 20E) de ninhos locais foram submetidas ao mesmo teste de atratividade perante os machos. Em um intervalo de 5 min, vários machos tentaram copular com cada rainha fisogástrica testada (Figura 20F), o que demonstrou que a rainha fisogástrica continua produzindo os feromônios sexuais mesmo estando tanto tempo dentro da colônia. Devido a estas observações, cada rainha fisogástrica foi colocada em um vial de 1,5 mL juntamente com uma das rainhas virgens *in vitro* não atrativas, a qual ficou encostando-se à rainha fisogástrica dentro do vidrinho por 15 min e depois esta rainha virgem foi colocada novamente com os machos na placa de Petri. Como resultado, alguns machos tentaram copular com a rainha virgem e um deles conseguiu realizar a cópula (Figura 20G). Estes experimentos estão disponíveis na tese de doutorado de Menezes (2010). As rainhas virgens *in vitro* não atrativas colocadas com uma rainha fisogástrica serão denominadas de agora em diante de **rainhas virgens *in vitro* atrativas (RVIVA)**.



**Figura 20.** Testes de atratividade de rainhas de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure em laboratório: (A) e (B) placas de criação *in vitro* de rainhas; (C) rainha virgem *in vitro*; (D) placas de petri com machos; (E) rainha fisogástrica; (F) aglomerado de machos em cima de uma rainha fisogástrica; (G) acasalamento de uma rainha RVIVA com macho. Fotos gentilmente cedidas pelo Dr. Cristiano Menezes.

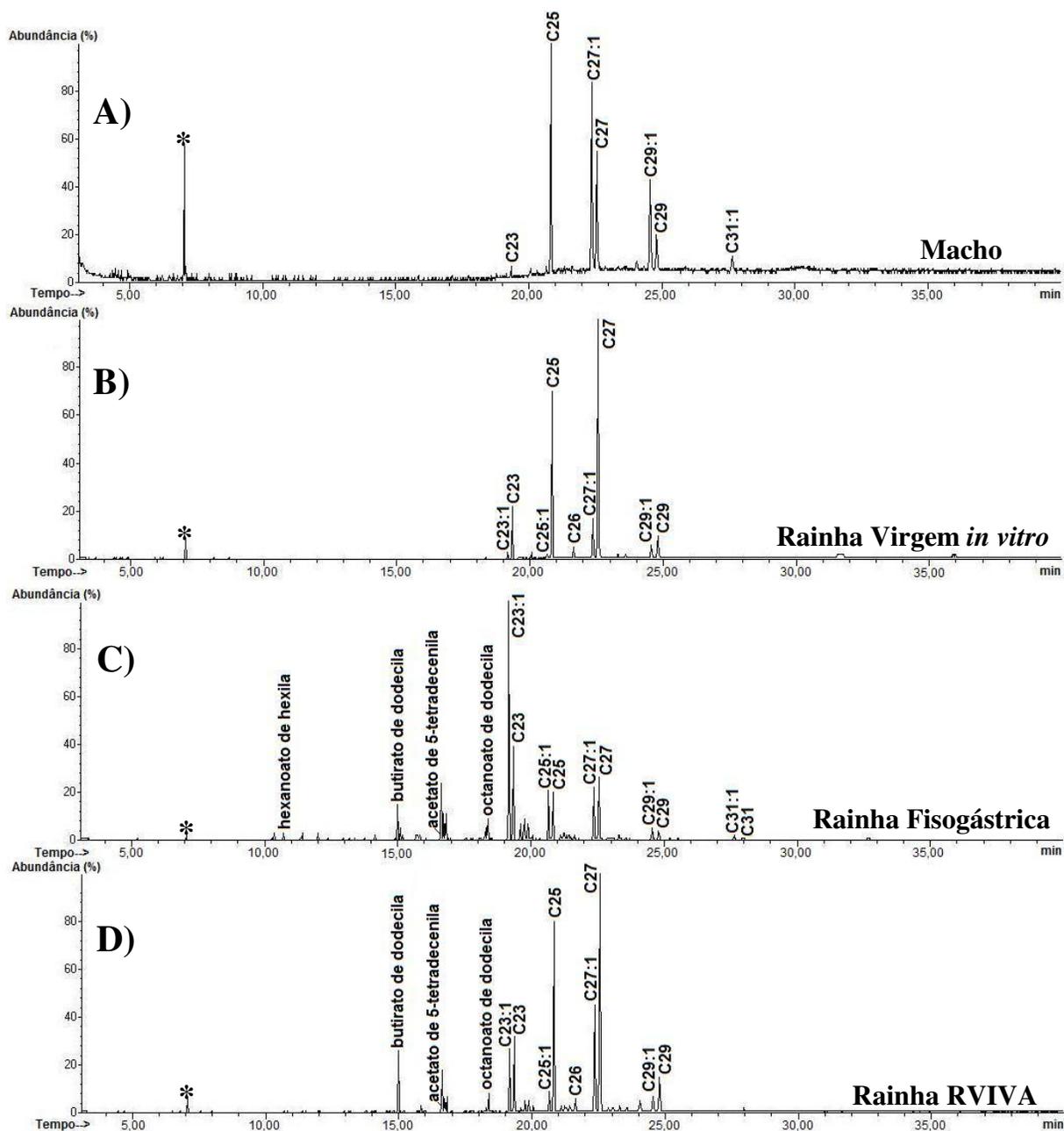
A reflexão em cima dos resultados destes testes de atratividade levou a questionar quais seriam os compostos epicuticulares que foram transferidos da rainha fisogástrica para a rainha virgem *in vitro* não atrativa tornando-a atrativa aos machos e quais seriam as diferenças de composição química entre as rainhas atrativas e não atrativas.

### 3.2.1. Resultados e discussão

Com o intuito de responder a estas questões, as rainhas virgens *in vitro* (nas duas fases do experimento), as rainhas fisogástricas e os machos de *S. aff. depilis* dos testes de atratividade foram capturados e extratos epicuticulares de cada indivíduo ( $N = 1$ , em triplicata) e das secreções anais das rainhas fisogástricas foram obtidos e analisados por CG-EM (Parte Experimental, seções 8.1 e 8.5.2, págs. 119 e 133).

Os **extratos epicuticulares dos machos** de *S. aff. depilis* (Figura 21A e Tabelas 4 e 5 abaixo) são constituídos de hidrocarbonetos (100%; C23, C25, C27:1, C27, C29:1, C29 e C31:1), assim como os **extratos epicuticulares das rainhas virgens *in vitro*** (100%; C23:1, C23, 11-Me-C23, 5-Me-C23, 3-Me-C23, C24, C25:1, C25, C26, C27:1, C27, C29:1 e C29; Figura 21B e Tabelas 4 e 5).

Os **extratos epicuticulares das rainhas fisogástricas** de *S. aff. depilis* (Figura 21C e Tabelas 4 e 5) são constituídos de hidrocarbonetos (70,19%; C21:1, C22, C23:1, C23, 11-Me-C23, 5-Me-C23, 3-Me-C23, C24, C25:1, C25, C26:1, C26, C27:1, C27, C29:1, C29, C31:1 e C31), ésteres (20,82%; hexanoato de hexila, butirato de decila, butirato de dodecila, butirato de 2-tridecila, acetato de tetradecila, acetato de 5-tetradecenila, acetato de tetradecenila (outro isômero), octanoato de decila, acetato de 7-hexadecenila, acetato de 9-hexadecenila, butirato de tetradecila e octanoato de dodecila), cetonas (1,26%; 2-tridecanona, 2-pentadecanona e 2-nonadecanona), aldeídos (1,3%; benzaldeído, 4-hidróxibenzaldeído e 2,4-di-hidróxibenzaldeído), ácido gerânico (0,20%) e 1,9-nonanediol (0,75%).

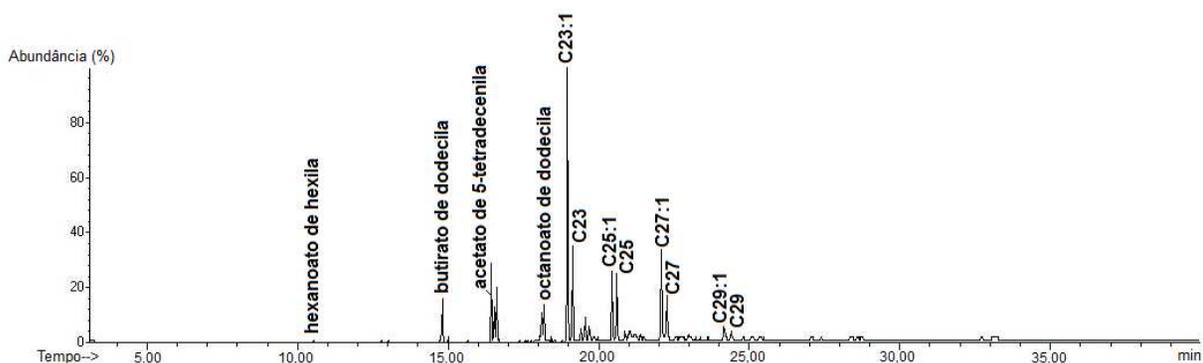


**Figura 21.** Cromatogramas de íons do extrato epicuticular: (A) do macho, (B) da rainha virgem *in vitro*, (C) da rainha fisogástrica e (D) da rainha RVIVA de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure. Em destaque alguns hidrocarbonetos (C23:1, C23, C25:1, C25, C26, C27:1, C27, C29:1, C29, C31:1 e C31) e ésteres. \*Undecano: padrão interno.

Os extratos epicuticulares das rainhas RVIVA (Figura 21D; Tabelas 4 e 5) consistem de hidrocarbonetos (86,93%; C23:1, C23, 11-Me-C23, 5-Me-C23, 3-Me-C23, C24, C25:1, C25, C26:1, C26, C27:1, C27, C29:1 e C29), ésteres (10,64%; butirato de decila, butirato de dodecila, butirato de 2-

tridecila, acetato de 5-tetradecenila, acetato de tetradecenila (outro isômero), octanoato de decila, acetato de 7-hexadecenila, acetato de 9-hexadecenila e octanoato de dodecila) e cetonas (1,24%; 2-tridecanona e 2-pentadecanona). Todos os compostos foram identificados pela comparação de seus espectros de massas com dados da biblioteca Wiley275 do CG-EM e seus índices de retenção calculados foram comparados com a literatura (Adams, 1995; Tabelas 4 e 5). Alguns ésteres foram co-injetados com padrões comerciais de acordo com a Tabela 4.

Os extratos das **secreções anais das rainhas fisogástricas** de *S. aff. depilis* (Figura 22; Tabelas 4 e 5) são constituídos de hidrocarbonetos (70,35%; C23:1, C23, 11-Me-C23, 5-Me-C23, 3-Me-C23, C25:1, C25, C27:1, C27, C29:1 e C29), ésteres (27,75%; hexanoato de hexila, butirato de decila, butirato de dodecila, acetato de tetradecila, acetato de 5-tetradecenila, acetato de tetradecenila (outro isômero), octanoato de decila, acetato de 7-hexadecenila, acetato de 9-hexadecenila, butirato de tetradecila e octanoato de dodecila) e ácido gerânico (0,10%).



**Figura 22.** Cromatograma de íons do extrato das secreções anais das rainhas fisogástricas de *Scaptotrigona aff. depilis* Moure. Em destaque alguns hidrocarbonetos (C23:1, C23, C25:1, C25, C27:1, C27, C29:1 e C29) e ésteres.

Os *n*-alcenos e os acetatos insaturados encontrados nos extratos foram derivatizados com DMDS/I<sub>2</sub> (Parte Experimental, seção 8.4, pág. 128) e as

análises dos derivados DMDS por CG-EM (Parte Experimental, seção 8.1, pág. 119) revelou que todos os espectros de massas possuíam o fragmento de  $m/z$  173,  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ , e os picos bases (100%) em  $m/z$ : 215  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  ( $n$ -C21), 229  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  ( $n$ -C22), 243  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  ( $n$ -C23), 257  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  ( $n$ -C24), 271  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  ( $n$ -C25), 285  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  ( $n$ -C26), 299  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  ( $n$ -C27), 327  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  ( $n$ -C29) e 355  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  ( $n$ -C31), sugerindo que a dupla ligação para estes  $n$ -alcenos estava localizada no C-9 (Anexos A7-A15, págs. 177-179); como descrito anteriormente na seção 3.1.1 de *M. quadrifasciata*.

O espectro de massas do derivado DMDS do acetato de tetradecenila (Tabela 4 -  $t_R$ : 16,64 min) apresentou fragmentos de  $m/z$  348 (íon molecular),  $m/z$  173  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  e  $m/z$  175  $[\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$ , sugerindo que a dupla ligação estava localizada no C-5 (Anexo A16, pág. 180; Buser *et al.*, 1983). Os espectros de massas dos derivados DMDS de dois isômeros do acetato de hexadecenila (Tabela 4 - tempos de retenção 16,80 min e 18,30 min) possuíam ambos o fragmento de  $m/z$  376 correspondente ao íon molecular e os pares de fragmentos de  $m/z$  173/203  $\{[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  e  $[\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_6\text{CH}=\text{SCH}_3]^+\}$  e  $m/z$  145/231  $\{[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$  e  $[\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_8\text{CH}=\text{SCH}_3]^+\}$ , indicando que a dupla ligação destes isômeros estava no C-7 e no C-9 (Tabela 4; Anexos A17 e A18, págs. 181-182). O isômero do acetato de tetradecenila de tempo de retenção de 18,26 min e o isômero do acetato de hexadecenila com tempo de retenção de 19,79 min (Tabela 4) não tiveram a posição da dupla ligação determinada.

Os extratos epicuticulares das rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* (Tabelas 4 e 5) demonstram 33,98% de  $n$ -alcenos, 31,63% de  $n$ -alcanos e 4,58% de metil alcanos, enquanto nos extratos epicuticulares das rainhas

virgens *in vitro* (Tabelas 4 e 5) foi observado uma predominância de *n*-alcanos (71,30%) em relação aos *n*-alcenos (26,30%) e metil alcanos (2,40%). No caso das rainhas RVIVA (22,66% de *n*-alcenos; 61,81% de *n*-alcanos; 2,46% de metil alcanos) manteve praticamente as mesmas diferenças observadas nas rainhas virgens *in vitro* (Tabelas 4 e 5). No entanto, os extratos epicuticulares dos machos (Tabelas 4 e 5) possuem aproximadamente a mesma abundância relativa de *n*-alcenos (48,78%) e *n*-alcanos (51,22%); os metil alcanos não foram detectados nestes extratos. Essas diferenças nos hidrocarbonetos cuticulares revelam uma distinção casta-específica e sexo-específica, o que já é conhecido para os insetos sociais como uma forma de reconhecimento dos indivíduos da colônia (Singer, 1998).

Os extratos epicuticulares das rainhas virgens *in vitro*, não atrativas nos testes, e dos machos de *S. aff. depilis* (Tabela 5; Figuras 21A e 21B) apresentaram somente hidrocarbonetos, enquanto os extratos epicuticulares das rainhas fisogástricas (Tabela 5; Figura 21C) que atraíram os machos possuíam hidrocarbonetos, ésteres, cetonas, aldeídos, ácido gerânico e 1,9-nonanediol. As rainhas RVIVA, que foram pouco atrativas nos testes, apresentaram extratos epicuticulares (Tabela 5; Figura 21D) com uma pequena quantidade de ésteres (os mesmos da rainha fisogástrica, sem a presença de hexanoato de hexila e acetato de tetradecila), portanto a atratividade das rainhas fisogástricas e rainhas RVIVA foi preliminarmente atribuída à presença destes ésteres (Tabela 5). De acordo com o teste realizado, a menor atratividade observada nas rainhas RVIVA pode ser devido às diferenças nas proporções destes ésteres presentes na cutícula em relação aos das rainhas fisogástricas, pois a transferência destes ésteres ocorreu quando as rainhas RVIVA foram colocadas com as rainhas fisogástricas, o que não realizou um balanço correto com os compostos já presentes na cutícula e não obteve um

buquê perfeito como o presente na cutícula das rainhas fisogástricas. Outro fato curioso foi que praticamente a mesma composição química observada nos extratos epicuticulares das rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* foi encontrada nas suas secreções anais (Tabela 5; Figuras 21C e 22).

**Tabela 4.** Íons diagnósticos e índices de retenção dos compostos voláteis de rainhas e machos de *Scaptotrigona aff. depilis* Moure

COMPOSTOS	Íons diagnósticos - <i>m/z</i> (abundância relativa em %)	$t_R^{\delta}$	$IR_{(calc.)}^{\delta}$	$IR_{(lit.)}^{\delta}$
<b>Hidrocarbonetos</b>				
Nonadeceno†	266 (M <sup>+</sup> ; 22), 139 (13), 111 (31), 97 (76), 83 (100), 69 (72), 55 (70), 41 (29)	15,83	1877	-
Nonadecano	268 (M <sup>+</sup> ; 6), 113 (11), 99 (17), 85 (56), 71 (75), 57 (100), 43 (66)	16,03	1900	1900
9-Heneicoseno <sup>§</sup>	294 (M <sup>+</sup> ; 14), 139 (11), 125 (27), 111 (60), 97 (100), 83 (94), 69 (84), 55 (95), 43 (69)	17,56	2076	-
Heneicosano	296 (M <sup>+</sup> ; 4), 113 (12), 99 (19), 85 (56), 71 (76), 57 (100), 43 (69)	17,77	2100	2100
11-Metilheneicosano	310 (M <sup>+</sup> ; 1), 295 (3), 196 (4), 168 (36), 140 (13), 99 (23), 85 (61), 71 (78), 57 (100), 43 (55)	18,07	2138	-
7-Metilheneicosano	310 (M <sup>+</sup> ; 1), 295 (3), 224 (15), 112 (35), 99 (10), 85 (32), 71 (85), 57 (100), 43 (48)	18,11	2143	-
9-Docoseno	308 (M <sup>+</sup> ; 18), 139 (9), 125 (27), 111 (54), 97 (100), 83 (98), 69 (81), 57 (91), 43 (80)	18,38	2177	-
Docosano	310 (M <sup>+</sup> ; 5), 113 (11), 99 (13), 85 (55), 71 (69), 57 (100), 43 (64)	18,57	2200	2200
9-Tricoseno <sup>§</sup>	322 (M <sup>+</sup> ; 22), 139 (12), 125 (30), 111 (58), 97 (100), 83 (96), 69 (77), 55 (81), 43 (67)	19,17	2276	-
Tricosano <sup>§</sup>	324 (M <sup>+</sup> ; 6), 113 (13), 99 (15), 85 (78), 71 (88), 57 (100), 43 (63)	19,34	2300	2300
11-Metiltricosano <sup>§</sup>	338 (M <sup>+</sup> ; 1), 323 (2), 224 (1), 196 (18), 168 (27), 140 (7), 85 (57), 71 (75), 57 (100), 43 (52)	19,61	2335	2336
5-Metiltricosano	323 (M <sup>+</sup> -15; 3), 308 (2), 295 (2), 281 (22), 252 (5), 99 (14), 85 (100), 71 (56), 57 (88), 43 (89)	19,72	2351	2347
3-Metiltricosano	323 (M <sup>+</sup> -15; 1), 309 (34), 280 (4), 99 (18), 85 (45), 71 (63), 57 (100), 43 (59)	19,87	2372	2375
9-Tetracoseno	336 (M <sup>+</sup> ; 19), 139 (11), 125 (29), 111 (60), 97 (100), 83 (98), 69 (82), 57 (90), 43 (74)	19,90	2376	-
Tetracosano	338 (M <sup>+</sup> ; 3), 113 (12), 99 (21), 85 (53), 71 (76), 57 (100), 43 (58)	20,07	2400	2400
9-Pentacoseno <sup>§</sup>	350 (M <sup>+</sup> ; 17), 139 (12), 125 (28), 111 (55), 97 (100), 83 (93), 69 (76), 57 (87), 43 (75)	20,66	2477	-
Pentacosano <sup>§</sup>	352 (M <sup>+</sup> ; 2), 113 (10), 99 (18), 85 (54), 71 (76), 57 (100), 43 (62)	20,83	2500	2500
11-Metilpentacosano	366 (M <sup>+</sup> ; 1), 351 (3), 224 (14), 196 (9), 168 (25), 140 (9), 85 (61), 71 (76), 57 (100), 43 (57)	21,10	2533	2534
7-Metilpentacosano	351 (M <sup>+</sup> -15; 3), 281 (14), 252 (4), 112 (44), 99 (9), 85 (34), 71 (89), 57 (100), 43 (50)	21,16	2540	2541
5-Metilpentacosano	351 (M <sup>+</sup> -15; 6), 309 (27), 99 (16), 85 (90), 71 (45), 57 (100), 43 (69)	21,23	2549	2550
9-Hexacoseno	364 (M <sup>+</sup> ; 12), 140 (11), 125 (27), 111 (59), 97 (100), 83 (90), 69 (86), 57 (92), 43 (80)	21,45	2576	-
Hexacosano	366 (M <sup>+</sup> ; 3), 113 (12), 99 (21), 85 (55), 71 (84), 57 (100), 43 (63)	21,64	2600	2600
9-Heptacoseno <sup>§</sup>	378 (M <sup>+</sup> ; 12), 139 (11), 125 (27), 111 (55), 97 (100), 83 (96), 69 (76), 57 (92), 43 (75)	22,35	2677	-
Heptacosano <sup>§</sup>	380 (M <sup>+</sup> ; 3), 113 (12), 99 (17), 85 (61), 71 (80), 57 (100), 43 (64)	22,56	2700	2700
11-Metilheptacosano	379 (M <sup>+</sup> -15; 5), 252 (14), 224 (10), 196 (9), 168 (30), 99 (24), 85 (60), 71 (75), 57 (100), 43 (62)	22,87	2730	2734
9-Nonacoseno	406 (M <sup>+</sup> ; 10), 139 (10), 125 (27), 111 (55), 97 (100), 83 (93), 69 (77), 57 (92), 43 (73)	24,51	2876	-
Nonacosano	408 (M <sup>+</sup> ; 5), 113 (17), 99 (20), 85 (53), 71 (75), 57 (100), 43 (47)	24,81	2900	2900
9-Hentriaconteno	434 (M <sup>+</sup> ; 8), 139 (11), 125 (28), 111 (65), 97 (100), 83 (94), 69 (74), 57 (91), 43 (83)	27,60	3078	-
Hentriacontano	436 (M <sup>+</sup> ; 1), 113 (12), 99 (19), 85 (56), 71 (73), 57 (100), 43 (56)	27,99	3100	3100
<b>Cetonas</b>				
2-Heptanona <sup>*:§</sup>	114 (M <sup>+</sup> ; 7), 99 (4), 85 (3), 71 (18), 58 (70), 43 (100)	4,88	871	889
2-Undecanona <sup>*:§</sup>	170 (M <sup>+</sup> ; 6), 155 (2), 127 (4), 112 (5), 95 (4), 85 (7), 71 (36), 58 (100), 43 (78)	10,40	1294	1291
2-Tridecanona <sup>§</sup>	198 (M <sup>+</sup> ; 6), 183 (2), 170 (1), 155 (2), 140 (6), 96 (6), 85 (12), 71 (37), 58 (100), 43 (69)	12,00	1497	1481
Benzofenona	182 (M <sup>+</sup> ; 67), 105 (100), 77 (53), 51 (17)	13,64	1651	-
2-Pentadecanona <sup>*:§</sup>	226 (M <sup>+</sup> ; 8), 211 (3), 168 (7), 127 (4), 96 (8), 85 (17), 71 (44), 58 (100), 43 (69)	14,15	1701	1689
2-Nonadecanona <sup>§</sup>	282 (M <sup>+</sup> ; 8), 267 (4), 224 (4), 96 (12), 85 (13), 83 (14), 71 (46), 58 (100), 43 (73)	17,83	2109	-

Continuação da Tabela 4

COMPOSTOS	Íons diagnósticos - $m/z$ (abundância relativa em %)	$t_R^{\delta}$	$IR_{(calc.)}^{\delta}$	$IR_{(lit.)}^{\delta}$
<b>Ésteres</b>				
Hexanoato de hexila*	157 ( $M^+$ -43; 1), 144 (2), 129 (3), 117 (100), 99 (66), 84 (56), 71 (22), 69 (23), 56 (48), 43 (72)	10,71	1385	1387
Butirato de decila*	185 ( $M^+$ -43; 3), 176 (2), 140 (23), 111 (20), 97 (30), 89 (100), 83 (34), 71 (94), 56 (43), 43 (77)	12,98	1587	1590
Butirato de dodecila*	256 ( $M^+$ ; 1), 213 (4), 168 (13), 140 (11), 125 (7), 111 (17), 97 (32), 89 (100), 83 (35), 71 (78), 55 (39), 43 (72)	15,00	1788	-
Butanoato de 2-tridecila	255 ( $M^+$ -15; 1), 182 (12), 125 (4), 115 (22), 97 (14), 89 (20), 83 (12), 71 (100), 57 (19), 55 (18), 43 (37)	15,10	1798	-
Acetato de tetradecila*	196 ( $M^+$ -60; 5), 168 (8), 125 (9), 111 (23), 97 (44), 83 (56), 69 (51), 55 (48), 43 (100)	15,19	1808	1811
Hexadecanoato de metila*	270 ( $M^+$ ; 13), 239 (11), 227 (15), 143 (23), 87 (70), 74 (100), 55 (21), 43 (32)	16,26	1925	-
Acetato de 5-tetradecenila	194 ( $M^+$ -60; 27), 166 (21), 138 (22), 124 (19), 109 (22), 96 (69), 82 (100), 71 (71), 67 (66), 55 (46), 43 (64)	16,64	1968	-
Octanoato de decila*	284 ( $M^+$ ; 1), 200 (1), 185 (3), 145 (100), 140 (32), 127 (30), 112 (17), 111 (17), 97 (26), 83 (26), 70 (27), 57 (54), 43 (43)	16,73	1978	-
Acetato de 7-hexadecenila	222 ( $M^+$ -60; 16), 194 (4), 166 (5), 123 (18), 109 (36), 96 (83), 82 (100), 71 (18), 67 (81), 55 (70), 43 (98)	16,80	1987	1993
Butirato de tetradecila*	241 ( $M^+$ -43; 5), 196 (9), 168 (6), 125 (8), 111 (18), 97 (34), 89 (100), 83 (38), 71 (67), 55 (37), 43 (63)	16,81	1988	-
Hexadecanoato de etila*	284 ( $M^+$ ; 13), 241 (14), 239 (15), 157 (22), 101 (62), 88 (100), 73 (16), 55 (21), 43 (25)	16,86	1993	1993
Acetato de hexadecila*	224 ( $M^+$ -60; 5), 196 (9), 125 (11), 111 (27), 97 (63), 83 (63), 69 (54), 55 (58), 43 (100)	16,99	2008	2009
Octadecadienoato de metila	294 ( $M^+$ ; 20), 263 (13), 164 (16), 110 (28), 95 (65), 81 (100), 67 (90), 55 (62), 41 (66)	17,76	2100	-
Octadecenoato de metila	296 ( $M^+$ ; 7), 264 (34), 222 (24), 180 (18), 97 (45), 83 (51), 69 (59), 55 (100), 41 (56)	17,80	2105	-
Octadecanoato de metila*	298 ( $M^+$ ; 20), 267 (9), 255 (19), 199 (11), 143 (22), 87 (71), 74 (100), 55 (23), 43 (27)	17,98	2127	-
Acetato de tetradecenila†	194 ( $M^+$ -60; 28), 166 (28), 138 (27), 124 (25), 109 (23), 96 (75), 82 (100), 71 (36), 67 (65), 55 (63), 43 (65)	18,26	2162	-
Acetato de 9-hexadecenila	282 ( $M^+$ ; 1), 222 (21), 194 (4), 166 (4), 123 (17), 109 (36), 96 (85), 82 (100), 71 (52), 67 (72), 55 (59), 43 (62)	18,30	2167	-
Octanoato de dodecila*	312 ( $M^+$ ; 2), 213 (5), 200 (1), 168 (23), 145 (100), 140 (11), 127 (28), 111 (19), 97 (33), 83 (34), 69 (32), 57 (58), 43 (43)	18,38	2177	-
Butirato de hexadecila*	269 ( $M^+$ -43; 4), 196 (4), 125 (9), 111 (18), 97 (31), 89 (100), 83 (34), 71 (62), 55 (34), 43 (51)	18,47	2188	-
Octadecanoato de etila*	312 ( $M^+$ ; 16), 269 (13), 267 (10), 157 (23), 101 (57), 88 (100), 55 (23), 43 (26)	18,51	2193	-
Acetato de octadecila*	312 ( $M^+$ ; 1), 252 (6), 224 (7), 125 (18), 111 (38), 97 (65), 83 (73), 69 (56), 55 (58), 43 (100)	18,63	2208	2210
9-Octadecenoato de hexadecila	507 ( $M^+$ ; 1), 506 (3), 283 (13), 264 (70), 222 (14), 180 (13), 111 (32), 97 (56), 85 (63), 69 (68), 57 (100), 43 (84)	19,67	2344	-
Acetato de hexadecenila†	282 ( $M^+$ ; 1), 222 (27), 194 (10), 166 (7), 123 (16), 109 (38), 96 (98), 82 (100), 67 (65), 55 (61), 43 (49)	19,79	2361	-
9-Octadecenoato de octadecila	535 ( $M^+$ ; 1), 534 (4), 283 (18), 264 (100), 222 (18), 180 (18), 111 (31), 97 (60), 83 (62), 69 (67), 57 (80), 43 (60)	31,61	3260	-
<b>Aldeídos</b>				
Benzaldeído** §	106 ( $M^+$ ; 100), 105 (94), 77 (83), 51 (28)	5,24	964	961
4-Hidróxibenzaldeído**	122 ( $M^+$ ; 86), 121 (100), 93 (33), 65 (27), 50 (4)	10,36	1356	-
2,4-Dihidróxibenzaldeído**	138 ( $M^+$ ; 80), 137 (100), 120 (2), 109 (3), 92 (6), 81 (11), 69 (9), 53 (8)	11,38	1443	-
Octadecanal	268 ( $M^+$ ; 1), 250 (5), 224 (5), 123 (13), 109 (22), 96 (69), 82 (95), 68 (51), 57 (100), 43 (87)	17,12	2024	2021
<b>Ácidos</b>				
Ácido gerânico**	168 ( $M^+$ ; 2), 153 (1), 123 (12), 100 (17), 69 (100), 41 (44)	10,28	1350	-
Ácido hexadecanóico	256 ( $M^+$ ; 56), 213 (39), 185 (31), 129 (49), 85 (39), 73 (100), 60 (80), 55 (83), 43 (84)	16,56	1959	-
Ácido (Z)-9-octadecenóico	282 ( $M^+$ ; 6), 264 (17), 222 (9), 111 (33), 97 (52), 83 (59), 69 (81), 55 (100), 43 (58)	18,10	2142	2141
<b>Álcoois</b>				
(S)-2-heptanol*** §	115 ( $M^+$ -1; 1), 98 (6), 83 (13), 70 (8), 55 (21), 45 (100)	5,00	881	905
(S)-2-nonanol*** §	143 ( $M^+$ -1; 1), 126 (4), 111 (3), 98 (10), 83 (6), 69 (27), 55 (18), 45 (100)	7,82	1097	1098
2-Undecanol*** §	171 ( $M^+$ -1; 1), 154 (3), 126 (6), 111 (6), 97 (15), 83 (22), 69 (17), 55 (21), 45 (100)	10,49	1301	-
1,9-Nonanediol	124 ( $M^+$ -36; 1), 112 (4), 95 (40), 82 (62), 68 (94), 67 (97), 55 (100), 41 (75)	11,42	1446	-
2-Tridecanol§	199 ( $M^+$ -1; 1), 185 (3), 182 (3), 154 (5), 140 (2), 125 (5), 111 (12), 97 (21), 83 (18), 69 (20), 57 (24), 55 (22), 45 (100)	12,86	1503	-

Continuação da Tabela 4

COMPOSTOS	Íons diagnósticos - $m/z$ (abundância relativa em %)	$t_R^{\delta}$	IR <sub>(calc.)</sub> <sup>δ</sup>	IR <sub>(lit.)</sub> <sup>δ</sup>
<b>Álcoois</b>				
2-Pentadecanol <sup>§</sup>	210 (M <sup>+</sup> -18; 5), 182 (4), 140 (3), 125 (9), 111 (11), 97 (23), 83 (16), 69 (23), 57 (26), 55 (24), 45 (100)	15,00	1706	-

\*Estes compostos foram co-injetados com padrões sintéticos. \*\*Estes compostos foram co-injetados com padrões comerciais.

<sup>δ</sup> $t_R$  = tempo de retenção (min); IR (calc.) = índice de retenção calculado (Van den Dool e Kratz, 1963); IR (lit.) = índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

<sup>§</sup>As análises de CG-EM dos extratos cefálicos foram realizadas com um programa de temperatura diferente, por isso os tempos de retenção são diferentes (veja Parte Experimental, seção 8.1, pág. 119).

†A posição da dupla ligação não foi determinada para estes compostos insaturados.

**Tabela 5.** Composição química dos extratos epicuticulares e secreções anais de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure

COMPOSTOS	EXTRATOS EPICUTICULARES*				EXTRATOS SECREÇÕES ANAIS*
	RF <sup>δ</sup>	RVIVA <sup>δ</sup>	RVIV <sup>δ</sup>	M <sup>δ</sup>	RF <sup>δ</sup>
<b>Hidrocarbonetos</b>					
9-Heneicoseno	0,30 ± 0,11	-	-	-	-
Docosano	0,13 ± 0,04	-	-	-	-
9-Tricoseno	18,71 ± 4,91	5,59 ± 2,19	10,78 ± 14,14	-	20,74 ± 5,25
Tricosano	8,27 ± 0,68	5,95 ± 0,94	8,36 ± 2,15	1,43 ± 0,45	7,16 ± 1,20
11-Metiltricosano	1,55 ± 0,39	0,40 ± 0,09	1,11 ± 0,86	-	1,52 ± 0,11
5-Metiltricosano	0,51 ± 0,02	1,02 ± 0,21	0,45 ± 0,06	-	0,13 ± 0,08
3-Metiltricosano	2,52 ± 0,48	1,04 ± 0,31	0,84 ± 0,48	-	1,10 ± 0,13
Tetracosano	0,59 ± 0,24	0,61 ± 0,12	0,64 ± 0,26	-	-
9-Pentacoseno	5,46 ± 0,36	2,17 ± 0,29	2,96 ± 3,07	-	5,42 ± 1,54
Pentacosano	8,15 ± 3,63	15,88 ± 2,72	20,18 ± 7,33	26,11 ± 1,66	6,86 ± 0,92
9-Hexacoseno	0,56 ± 0,07	0,48 ± 0,03	-	-	-
Hexacosano	0,65 ± 0,34	1,29 ± 0,07	1,51 ± 0,51	-	-
9-Heptacoseno	7,03 ± 1,10	10,58 ± 1,84	9,43 ± 2,23	27,14 ± 0,83	14,91 ± 3,12
Heptacosano	10,87 ± 6,10	32,20 ± 4,59	36,30 ± 12,55	17,09 ± 1,38	7,07 ± 1,53
9-Nonacoseno	1,33 ± 0,58	3,84 ± 1,44	3,13 ± 0,01	17,09 ± 0,77	3,46 ± 1,63
Nonacosano	2,27 ± 1,40	5,88 ± 1,07	4,31 ± 1,83	6,59 ± 1,03	1,98 ± 0,86
9-Hentriaconteno	0,59 ± 0,33	-	-	4,55 ± 1,90	-
Hentriacontano	0,70 ± 0,21	-	-	-	-
<b>Cetonas</b>					
2-Tridecanona	0,45 ± 0,07	0,29 ± 0,01	-	-	-
2-Pentadecanona	0,39 ± 0,01	0,95 ± 0,07	-	-	-
2-Nonadecanona	0,42 ± 0,25	-	-	-	-
<b>Ésteres</b>					
Hexanoato de hexila	0,83 ± 0,35	-	-	-	0,21 ± 0,01
Butirato de decila	0,28 ± 0,09	0,21 ± 0,02	-	-	0,16 ± 0,01
Butirato de dodecila	3,21 ± 0,25	2,77 ± 1,74	-	-	3,08 ± 0,99
Butirato de 2-tridecila	0,96 ± 0,05	0,38 ± 0,03	-	-	-
Acetato de tetradecila	0,44 ± 0,08	-	-	-	0,58 ± 0,23
Acetato de 5-tetradecenila	5,93 ± 0,60	2,93 ± 0,44	-	-	6,47 ± 2,02
Octanoato de decila	2,11 ± 0,60	1,33 ± 0,29	-	-	4,09 ± 1,67
Acetato de 7-hexadecenila	3,27 ± 0,79	1,08 ± 0,36	-	-	5,08 ± 1,97
Butirato de tetradecila	-	-	-	-	-
Acetato de tetradecenila†	0,41 ± 0,09	0,29 ± 0,10	-	-	0,93 ± 0,60
Acetato de 9-hexadecenila	1,24 ± 0,13	0,40 ± 0,11	-	-	3,18 ± 1,08
Octanoato de dodecila	2,14 ± 0,37	1,25 ± 0,44	-	-	3,97 ± 0,89

Continuação da Tabela 5

COMPOSTOS	EXTRATOS EPICUTICULARES*				EXTRATOS SECREÇÕES ANAIS*
	RF <sup>δ</sup>	RVIVA <sup>δ</sup>	RVIV <sup>δ</sup>	M <sup>δ</sup>	RF <sup>δ</sup>
<b>Aldeídos</b>					
Benzaldeído	0,30 ± 0,01	-	-	-	-
4-Hidróxibenzaldeído	0,74 ± 0,16	-	-	-	-
2,4-Dihidróxibenzaldeído	0,26 ± 0,01	-	-	-	-
<b>Ácido terpênico</b>					
Ácido gerânico	0,20 ± 0,02	-	-	-	0,10 ± 0,01
<b>Álcool</b>					
1,9-Nonanediol	0,75 ± 0,30	-	-	-	-
<b>Não identificados</b>					
Total	5,48 ± 3,15	1,19 ± 0,86	-	-	1,80 ± 0,55

\*Média ± desvio padrão das abundâncias relativas, de acordo com a porcentagem do tamanho da área do pico. *N* = 1, em triplicata para cada casta e sexo.

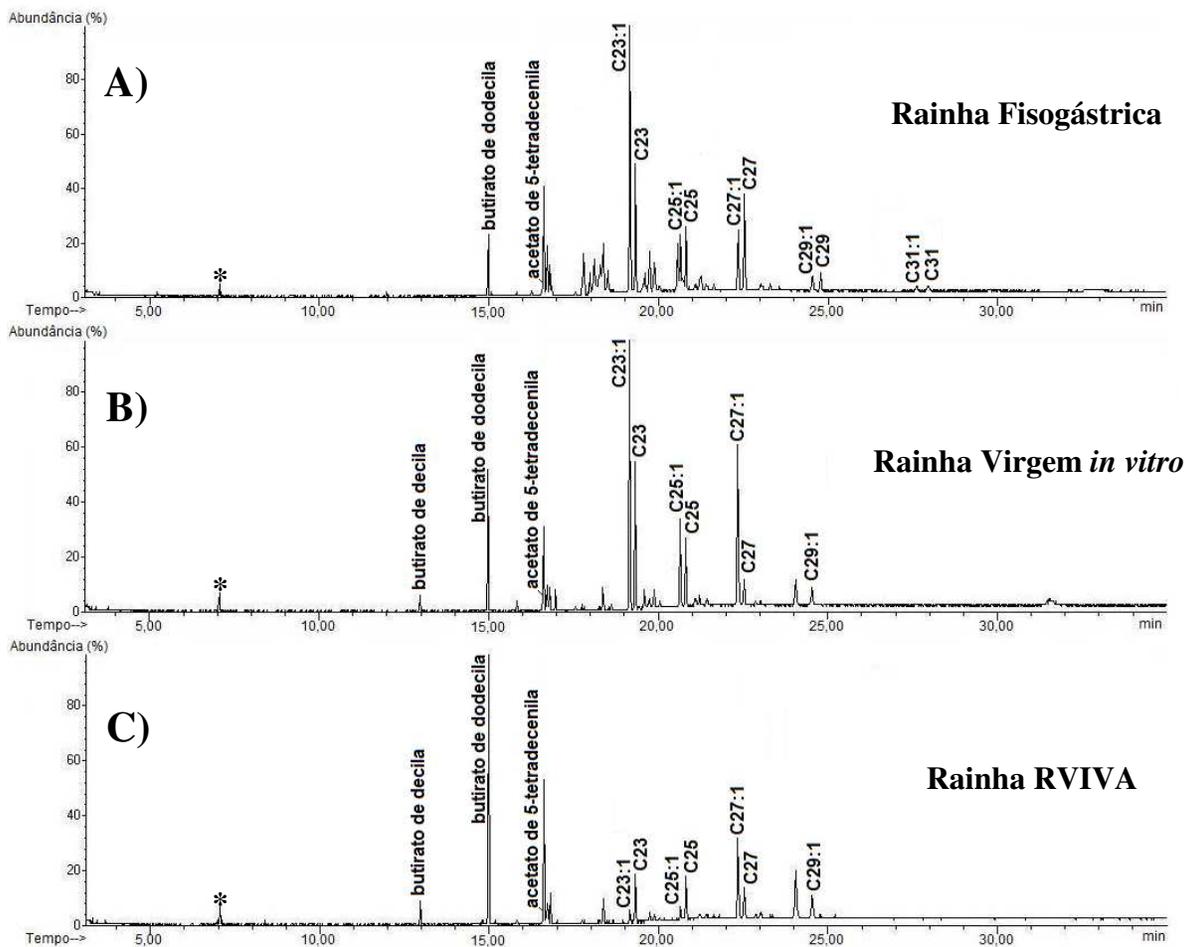
<sup>δ</sup>RF = rainha fisogástrica; RVIVA = rainha virgem *in vitro* colocada com uma rainha fisogástrica; RVIV = rainha virgem *in vitro*; M = macho; (-) = não encontrados.

†A posição da dupla ligação não foi determinada para este acetato insaturado.

Extratos das glândulas de Dufour e das glândulas terçais de todas as rainhas também foram analisados por CG-EM (Parte Experimental, seções 8.1 e 8.5.2, págs. 119 e 133) para verificar a origem dos ésteres presentes nos extratos epicuticulares.

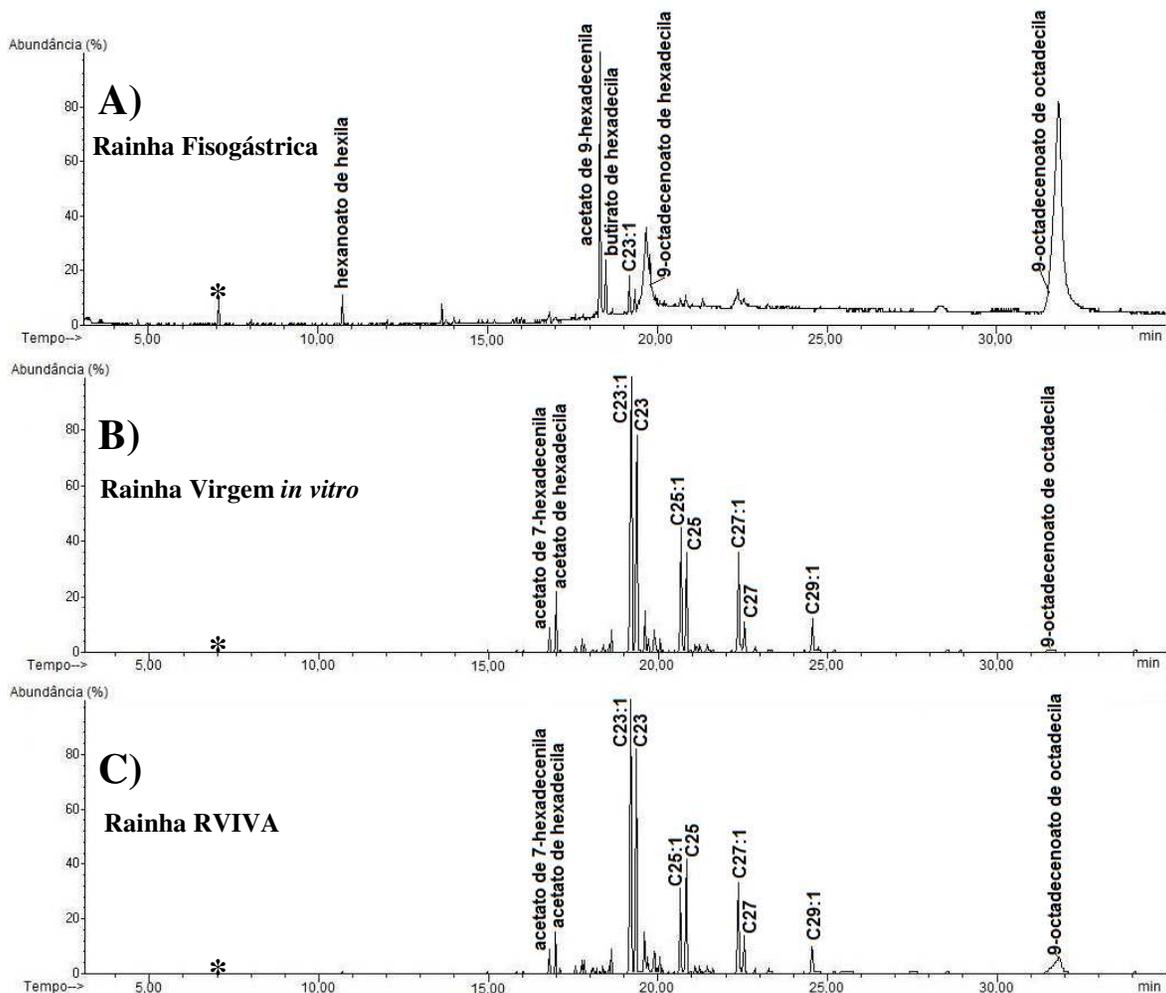
Os extratos das **glândulas terçais das rainhas fisogástricas** de *S. aff. depilis* (Figura 23A; Tabelas 4 e 6) são constituídos por hidrocarbonetos (54,67%; C23:1, C23, 11-Me-C23, 5-Me-C23, 3-Me-C23, C24, C25:1, C25, 11-Me-C25, 5-Me-C25, C26:1, C26, C27:1, C27, 11-Me-C27, C29:1, C29, C31:1 e C31), ésteres (28,15%; butirato de dodecila, hexadecanoato de metila, acetato de 5-tetradecenila, octanoato de decila, butirato de tetradecila, hexadecanoato de etila, octadecadienoato de metila, octadecenoato de metila, octadecanoato de metila, acetato de 9-hexadecenila, octanoato de dodecila e octadecanoato de etila), ácidos carboxílicos (6,11%; ácido hexadecanóico e ácido 9-octadecenóico), 2-tridecanona (0,19%) e benzaldeído (0,31%).

Os extratos das **glândulas terçais das rainhas virgens** de *S. aff. depilis* (Figuras 23B e 23C; Tabelas 4 e 6) são constituídos por hidrocarbonetos (*in vitro*: 61,07% - C19:1, C23:1, C23, 11-Me-C23, 5-Me-C23, 3-Me-C23, C24, C25:1, C25, 11-Me-C25, 5-Me-C25, C27:1, C27, 11-Me-C27 e C29:1; e **RVIVA**: 36,85% - C19:1, C23:1, C23, 3-Me-C23, C25:1, C25, 11-Me-C25, 5-Me-C25, C27:1, C27 e C29:1) e ésteres (*in vitro*: 31,30% - butirato de decila, butirato de dodecila, acetato de 5-tetradecenila, octanoato de decila, butirato de tetradecila, acetato de hexadecila, octanoato de dodecila e acetato de octadecila; e **RVIVA**: 49,24% - butirato de decila, butirato de dodecila, acetato de tetradecila, acetato de 5-tetradecenila, octanoato de decila, butirato de tetradecila e octanoato de dodecila).



**Figura 23.** Cromatogramas de íons dos extratos das glândulas terçais (A) da rainha fisogástrica, (B) da rainha virgem *in vitro* e (C) da rainha RVIVA de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure. Em destaque alguns hidrocarbonetos (C23:1, C23, C25:1, C25, C27:1, C27, C29:1, C29, C31:1 e C31) e ésteres. \*Undecano: padrão interno.

Os extratos das **glândulas de Dufour das rainhas fisogástricas** (Figura 24A; Tabelas 4 e 6) são constituídos de hidrocarbonetos (5,55%; C23:1 e C23), ésteres (85,9%; hexanoato de hexila, acetato de 7-hexadecenila, acetato de 9-hexadecenila, acetato de hexadecenila (outro isômero), butirato de hexadecila, 9-octadecenoato de hexadecanila e 9-octadecenoato de octadecanila) e benzofenona (1,07%).



**Figura 24.** Cromatogramas de íons dos extratos da glândula de Dufour (A) da rainha fisogástrica, (B) da rainha virgem *in vitro* e (C) da rainha RVIVA de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure. \*Undecano: padrão interno.

Os extratos das **glândulas de Dufour das rainhas virgens** (Figuras 24B e 24C; Tabelas 4 e 6) consistem de hidrocarbonetos (*in vitro*: 86,0% e **RVIVA**: 66,62%; mesma composição - C19:1, C19, C21:1, C21, 11-Me-C21, 7-Me-C21, C22:1, C22, C23:1, C23, 11-Me-C23, 5-Me-C23, 3-Me-C23, C24:1, C24, C25:1, C25, 11-Me-C25, 7-Me-C25, 5-Me-C25, C26:1, C26, C27:1, C27, 11-Me-C27 e C29:1), cetonas (*in vitro*: 0,74% e **RVIVA**: 0,53%; mesma composição – benzofenona e 2-nonadecanona), ésteres (*in vitro*: 7,78% - acetato de 7-hexadecenila, acetato de 9-hexadecenila, acetato de

hexadecila, butirato de hexadecila, acetato de octadecila e 9-octadecenoato de octadecanila; e **RVIVA**: 28,63% - acetato de tetradecila, acetato de 7-hexadecenila, acetato de 9-hexadecenila, acetato de hexadecila, butirato de hexadecila, acetato de octadecila e 9-octadecenoato de octadecanila) e octadecanal (*in vitro*: 0,22% e **RVIVA**: 0,14%).

**Tabela 6.** Composição química dos extratos das glândulas de Dufour e das glândulas terçais de rainhas de *Scaptotrigona aff. depilis* Moure

COMPOSTOS	RF <sup>δ</sup>		RVIVA <sup>δ</sup>		RVIV <sup>δ</sup>	
	Glândulas terçais*	Glândula de Dufour*	Glândulas terçais*	Glândula de Dufour*	Glândulas terçais*	Glândula de Dufour*
<b>Hidrocarbonetos</b>						
Nonadeceno†	-	-	0,96 ± 0,06	0,06 ± 0,02	0,68 ± 0,01	0,10 ± 0,01
Nonadecano	-	-	-	0,10 ± 0,04	-	0,12 ± 0,03
9-Heneicoseno	-	-	-	0,21 ± 0,04	-	0,28 ± 0,07
Heneicosano	-	-	-	0,53 ± 0,03	-	0,59 ± 0,13
11-Metilheneicosano	-	-	-	0,14 ± 0,04	-	0,19 ± 0,02
7-Metilheneicosano	-	-	-	0,16 ± 0,02	-	0,19 ± 0,03
9-Docoseno	-	-	-	0,43 ± 0,07	-	0,42 ± 0,05
Docosano	-	-	-	0,32 ± 0,01	-	0,36 ± 0,04
9-Tricoseno	13,10 ± 2,99	3,55 ± 1,69	1,39 ± 0,30	19,51 ± 0,61	12,60 ± 6,51	24,65 ± 4,41
Tricosano	6,16 ± 1,62	2,00 ± 1,16	3,67 ± 1,52	14,91 ± 1,33	8,50 ± 1,57	20,06 ± 3,03
11-Metiltricosano	1,60 ± 0,05	-	-	2,73 ± 0,11	1,43 ± 0,68	3,01 ± 0,21
5-Metiltricosano	2,67 ± 0,79	-	-	1,91 ± 0,58	0,39 ± 0,01	0,80 ± 0,11
3-Metiltricosano	2,95 ± 0,18	-	2,21 ± 0,69	1,01 ± 0,05	2,00 ± 0,10	1,64 ± 0,36
9-Tetracoseno	-	-	-	0,82 ± 0,15	-	0,63 ± 0,68
Tetracosano	0,32 ± 0,02	-	-	0,74 ± 0,12	0,41 ± 0,02	0,90 ± 0,21
9-Pentacoseno	4,64 ± 0,54	-	1,76 ± 0,40	5,62 ± 0,99	5,33 ± 1,72	7,35 ± 2,11
Pentacosano	4,73 ± 1,63	-	4,75 ± 1,98	6,81 ± 1,05	5,71 ± 1,87	9,11 ± 2,01
11-Metilpentacosano	0,83 ± 0,36	-	0,51 ± 0,02	0,35 ± 0,05	0,93 ± 0,10	0,53 ± 0,15
7-Metilpentacosano	-	-	-	0,16 ± 0,04	-	0,27 ± 0,01
5-Metilpentacosano	1,80 ± 0,49	-	2,02 ± 0,03	0,30 ± 0,04	1,23 ± 0,12	0,42 ± 0,10
9-Hexacoseno	0,41 ± 0,01	-	-	0,41 ± 0,05	-	0,60 ± 0,18
Hexacosano	0,47 ± 0,05	-	-	0,16 ± 0,01	-	0,26 ± 0,04
9-Heptacoseno	5,14 ± 0,87	-	11,81 ± 1,76	5,25 ± 0,34	13,85 ± 1,32	7,26 ± 2,72
Heptacosano	5,69 ± 2,66	-	4,71 ± 1,82	2,09 ± 0,05	3,91 ± 1,73	3,53 ± 0,83
11-Metilheptacosano	0,39 ± 0,01	-	-	0,24 ± 0,07	0,70 ± 0,01	0,42 ± 0,02
9-Nonacoseno	1,14 ± 0,34	-	3,06 ± 0,99	1,65 ± 0,08	3,40 ± 0,90	2,31 ± 1,04
Nonacosano	1,27 ± 0,62	-	-	-	-	-
9-Hentriaconteno	0,59 ± 0,23	-	-	-	-	-
Hentriacontano	0,77 ± 0,08	-	-	-	-	-
<b>Cetonas</b>						
2-Tridecanona	0,19 ± 0,01	-	-	-	-	-
Benzofenona	-	1,07 ± 0,31	-	0,13 ± 0,02	-	0,33 ± 0,22
2-Nonadecanona	-	-	-	0,40 ± 0,03	-	0,41 ± 0,12
<b>Ésteres</b>						
Hexanoato de hexila	-	3,09 ± 2,21	-	-	-	-
Butirato de decila	-	-	1,75 ± 0,48	-	1,27 ± 0,29	-
Butirato de dodecila	2,80 ± 1,28	-	23,54 ± 2,97	-	13,64 ± 3,91	-
Acetato de tetradecila	-	-	0,91 ± 0,13	0,06 ± 0,02	-	-
Hexadecanoato de metila	0,44 ± 0,12	-	-	-	-	-

Continuação da Tabela 6

COMPOSTOS	RF <sup>δ</sup>		RVIVA <sup>δ</sup>		RVIV <sup>δ</sup>	
	Glândulas terçais*	Glândulas de Dufour*	Glândulas terçais*	Glândulas de Dufour*	Glândulas terçais*	Glândulas de Dufour*
<b>Ésteres</b>						
Acetato de 5-tetradecenila	5,86 ± 2,29	-	11,92 ± 3,46	-	8,05 ± 3,01	-
Octanoato de decila	1,89 ± 1,13	-	3,23 ± 1,11	-	2,10 ± 0,27	-
Acetato de 7-hexadecenila	-	3,43 ± 0,61	-	0,95 ± 0,28	-	1,09 ± 0,38
Butirato de tetradecila	1,28 ± 0,42	-	3,65 ± 1,12	-	2,38 ± 1,01	-
Hexadecanoato de etila	0,59 ± 0,20	-	-	-	-	-
Acetato de hexadecila	-	-	-	2,36 ± 0,03	1,37 ± 0,19	2,80 ± 0,84
Octadecadienoato de metila	0,89 ± 0,31	-	-	-	-	-
Octadecenoato de metila	5,18 ± 1,78	-	-	-	-	-
Octadecanoato de metila	1,73 ± 0,56	-	-	-	-	-
Acetato de 9-hexadecenila	3,02 ± 1,51	14,96 ± 6,20	-	0,16 ± 0,07	-	0,09 ± 0,02
Octanoato de dodecila	3,34 ± 1,55	-	4,24 ± 1,26	-	1,96 ± 0,26	-
Butirato de hexadecila	-	4,79 ± 2,57	-	0,17 ± 0,06	-	0,10 ± 0,01
Octadecanoato de etila	1,13 ± 0,13	-	-	-	-	-
Acetato de octadecila	-	-	-	0,82 ± 0,01	0,53 ± 0,03	1,08 ± 0,58
9-Octadecenoato de hexadecila	-	11,00 ± 1,41	-	-	-	-
Acetato de hexadecenila†	-	3,31 ± 1,95	-	-	-	-
9-Octadecenoato de octadecila	-	48,75 ± 0,35	-	24,11 ± 3,35	-	2,62 ± 0,10
<b>Aldeídos</b>						
Benzaldeído	0,31 ± 0,02	-	-	-	-	-
Octadecanal	-	-	-	0,14 ± 0,01	-	0,22 ± 0,08
<b>Ácidos carboxílicos</b>						
Ácido hexadecanóico	0,37 ± 0,11	-	-	-	-	-
Ácido (Z)-9-octadecenóico	5,74 ± 2,01	-	-	-	-	-
<b>Não identificados</b>						
Total	10,57 ± 4,50	7,48 ± 0,07	13,91 ± 7,16	4,08 ± 0,65	7,63 ± 7,04	5,26 ± 1,03

\*Média ± desvio padrão das abundâncias relativas, de acordo com a porcentagem do tamanho da área do pico. N = 1, em triplicata para cada casta.

<sup>δ</sup>RF = rainha fisogástrica; RVIVA = rainha virgem *in vitro* colocada com uma rainha fisogástrica; RVIV = rainha virgem *in vitro*; (-) = não encontrados.

†A posição da dupla ligação não foi determinada para estes compostos insaturados.

Alguns dos ésteres observados nos extratos epicuticulares (Tabela 5) das rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* foram identificados nos extratos das glândulas terçais (butirato de dodecila, acetato de 5-tetradecenila, octanoato de decila, butirato de tetradecila e octanoato de dodecila) e das glândulas de Dufour (acetato de 7-hexadecenila e acetato de 9-hexadecenila) tanto das rainhas fisogástricas como das rainhas virgens *in vitro* e RVIVA (Tabela 6), o que leva a concluir que as rainhas virgens possuíam os ésteres, mas não liberaram estes compostos para a superfície da cutícula. O motivo deste acontecimento pode ser a necessidade da seleção natural das rainhas virgens pelas operárias, uma vez que na seleção ocorrem agressões físicas (Imperatriz-

Fonseca e Zucchi, 1995; Wenseleers *et al.*, 2004). Estas evidências estão de acordo com as observações de Abdala e colaboradores (2005) que verificaram que as rainhas fisogástricas possuem glândulas epiteliais tegumentares no terceiro tergito (no abdome) muito mais desenvolvidas do que as rainhas virgens, as quais devem produzir feromônios para as interações sociais.

A função da glândula de Dufour em abelhas sem ferrão é desconhecida. Análises dos extratos da glândula de Dufour de rainhas de *Melipona bicolor* (Abdalla *et al.*, 2004) revelaram que as rainhas virgens possuem somente hidrocarbonetos (*n*-alcanos, *n*-alcenos e metil alcanos - C17 a C32), enquanto as rainhas fisogástricas são constituídas por ésteres (isobutirato de dodecila, isobutirato de tetradecila, acetato de dodecila, acetato de tetradecila, acetato de farnesila e acetato de geranil-geranila) e hidrocarbonetos (*n*-alcanos, *n*-alcenos e metil alcanos – C15 e C31). Entretanto, os extratos da glândula de Dufour das rainhas virgens de *S. mexicana* (Grajales-Conesa *et al.*, 2007) são constituídos de 2-alcanóis (2-heptanol, 2-nonanol, undecadien-2-ol, undecen-2-ol e 2-undecanol), cetonas (2-heptanona e 2-nonanona), decano e ésteres (hexanoato de hexila e octanoato de hexila), enquanto as rainhas fisogástricas possuem somente ésteres (butanoato de hexila, hexanoato de hexila e octanoato de hexila). Estes dados demonstram diferenças na composição química da glândula de Dufour que dependem da espécie e do estado de desenvolvimento da rainha.

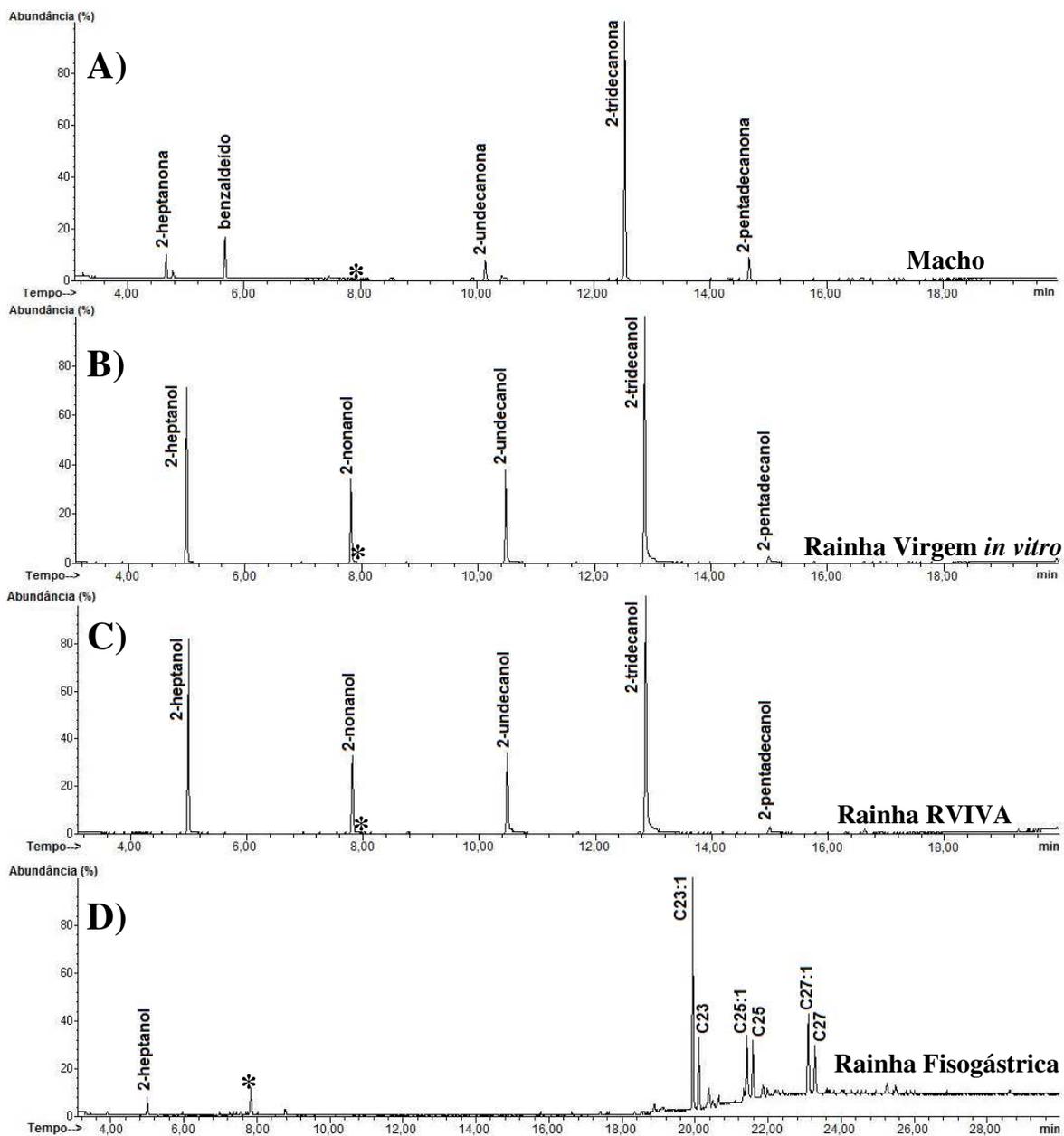
No presente trabalho os extratos da glândula de Dufour das rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* (Tabela 6; Figura 24A) revelaram a presença de ésteres principalmente ésteres de cadeia longa, o 9-octadecenoato de hexadecanila e o 9-octadecenoato de octadecanila, enquanto as rainhas virgens possuíam principalmente hidrocarbonetos, cetonas e ésteres (Tabela 6; Figuras 24B e 24C). O hexanoato de hexila foi localizado nos extratos de glândulas de

Dufour das rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* (Tabela 6; Figura 24A), o qual foi observado nos extratos epicuticulares e das secreções anais destas rainhas (Tabela 5; Figuras 21C e 22).

O fato das rainhas fisogástricas continuarem secretando feromônios sexuais que atraem os machos já foi relatado para *Lestrimelitta ehrhardti* (Sakagami e Laroça, 1953), *Schwarziana quadripunctata* (Campos e Melo, 1990), *Scaptotrigona postica* (Sakagami e Laroça, 1953; Engels e Engels, 1988), *Melipona quadrifasciata* (Campos e Melo, 1990), *Tetragonisca angustula* (Fierro *et al.*, 2011) e agora para *Scaptotrigona aff. depilis*, como observado nos testes de atratividade. A cópula dos machos com as rainhas fisogástricas foi observada somente em condições artificiais e de perturbação, pois as operárias não permitem que os machos permaneçam dentro da colônia quando estão na fase adulta (Nogueira-Neto, 1997) e por isso, é pouco provável que as rainhas fisogástricas secretem estas substâncias atrativas com o intuito de realizar uma nova cópula. A hipótese mais plausível é que essas substâncias regulem outras funções comportamentais das operárias no contexto colonial, como acontece em subespécies de *Apis mellifera*, nas quais os feromônios da rainha regulam o desenvolvimento do ovário das operárias (Hoover *et al.*, 2003). Porém, experimentos futuros poderão confirmar esta hipótese em abelhas sem ferrão.

Extratos cefálicos de cada indivíduo de rainhas e machos ( $N = 1$ , em triplicata) também foram analisados por CG-EM (Parte Experimental, seções 8.1 e 8.5.2, págs. 119 e 133).

Os **extratos cefálicos dos machos** de *S. aff. depilis* (Figura 25A; Tabela 7) são constituídos de cetonas (83,48%; 2-heptanona, 2-undecanona, 2-tridecanona e 2-pentadecanona), álcoois (6,65%; 2-heptanol e 2-tridecanol) e benzaldeído (9,87%).



**Figura 25.** Cromatogramas de íons dos extratos cefálicos (A) de macho, (B) de rainha virgem *in vitro*, (C) de rainha RVIVA e (D) de rainha fisogástrica de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure. \*Undecano: padrão interno.

Os extratos cefálicos das rainhas *in vitro* e RVIVA (Figuras 25B e 25C; Tabela 7) são constituídos somente por 2-alcanóis (100%; 2-heptanol, 2-nonanol, 2-undecanol, 2-tridecanol e 2-pentadecanol), enquanto nos extratos cefálicos das rainhas fisogástricas (Figuras 25D; Tabela 7) foram

observados hidrocarbonetos (97,61%; 9-tricoseno, tricosano, 11-metiltricosano, 9-pentacoseno, pentacosano, 9-heptacoseno e heptacosano) e 2-heptanol (2,39%).

**Tabela 7.** Composição química dos extratos cefálicos de rainhas e machos de *Scaptotrigona aff. depilis* Moure

COMPOSTOS	EXTRATOS CEFÁLICOS*			
	RF <sup>o</sup>	RVIVA <sup>o</sup>	RVIV <sup>o</sup>	M <sup>o</sup>
<b>Hidrocarbonetos</b>				
9-Tricoseno	37,72 ± 3,49	-	-	-
Tricosano	11,73 ± 1,11	-	-	-
11-Metiltricosano	4,75 ± 0,08	-	-	-
9-Pentacoseno	7,60 ± 1,82	-	-	-
Pentacosano	8,58 ± 1,67	-	-	-
9-Heptacoseno	15,42 ± 3,04	-	-	-
Heptacosano	11,81 ± 1,34	-	-	-
<b>Cetonas</b>				
2-Heptanona	-	-	-	6,38 ± 1,93
2-Undecanona	-	-	-	4,59 ± 0,94
2-Tridecanona	-	-	-	68,20 ± 0,12
2-Pentadecanona	-	-	-	4,31 ± 1,16
<b>Álcoois</b>				
(S)-2-heptanol	2,39 ± 0,08	26,45 ± 3,42	23,96 ± 1,49	4,61 ± 3,70
(S)-2-nonanol	-	15,46 ± 1,30	13,87 ± 1,53	-
(S)-2-undecanol	-	14,11 ± 1,55	14,95 ± 0,28	-
2-Tridecanol	-	42,81 ± 2,29	45,85 ± 0,53	2,04 ± 0,05
2-Pentadecanol	-	1,17 ± 0,21	1,37 ± 0,58	-
<b>Aldeído</b>				
Benzaldeído	-	-	-	9,87 ± 3,47

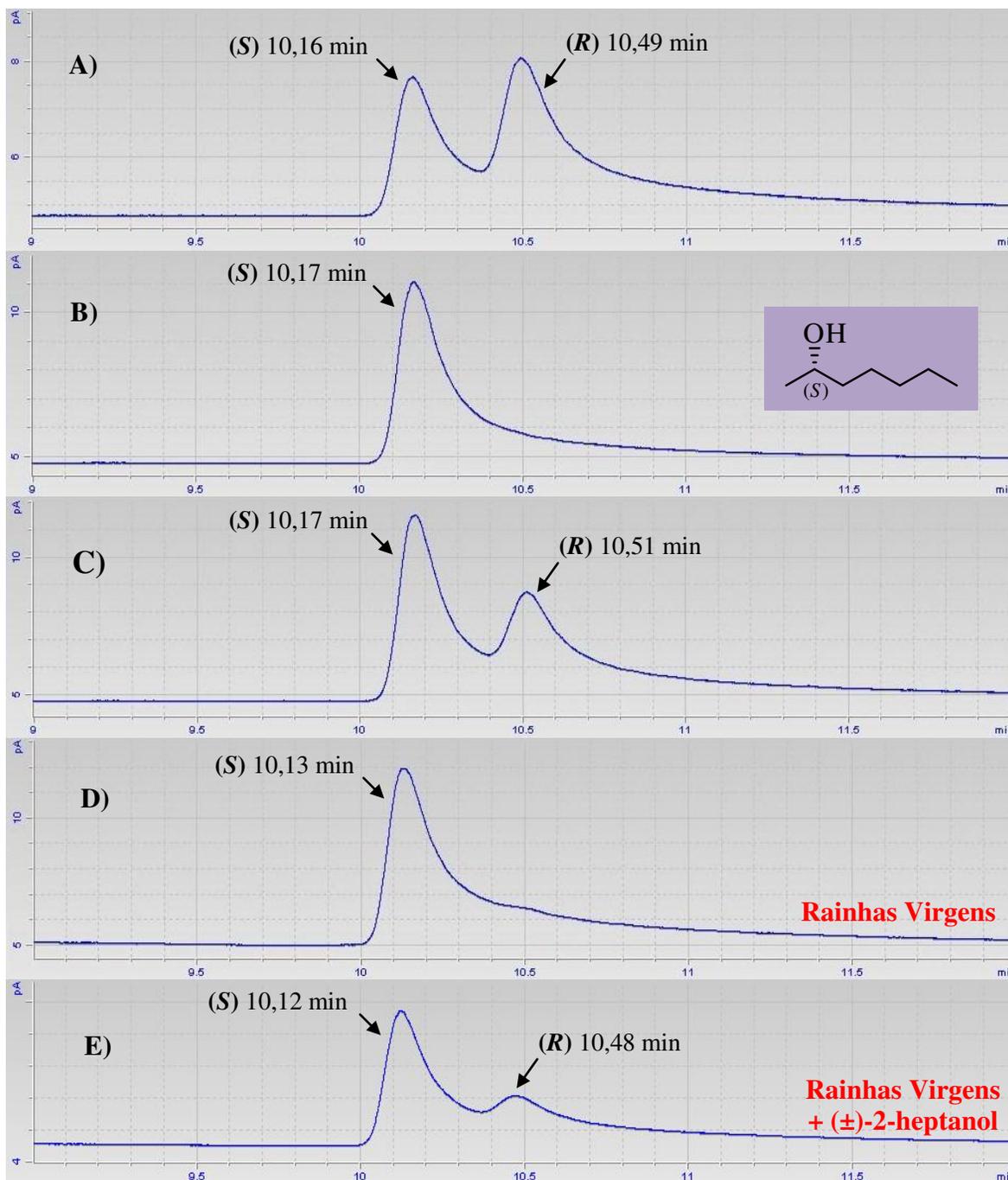
\*Média ± desvio padrão das abundâncias relativas, de acordo com a porcentagem do tamanho da área do pico. N = 1, em triplicata para cada casta e sexo.

<sup>o</sup>RF = rainha fisogástricas; RVIVA = rainha virgem *in vitro* colocada com uma rainha fisogástrica; RVIV = rainhas virgens *in vitro*; M = machos; (-) = não encontrados.

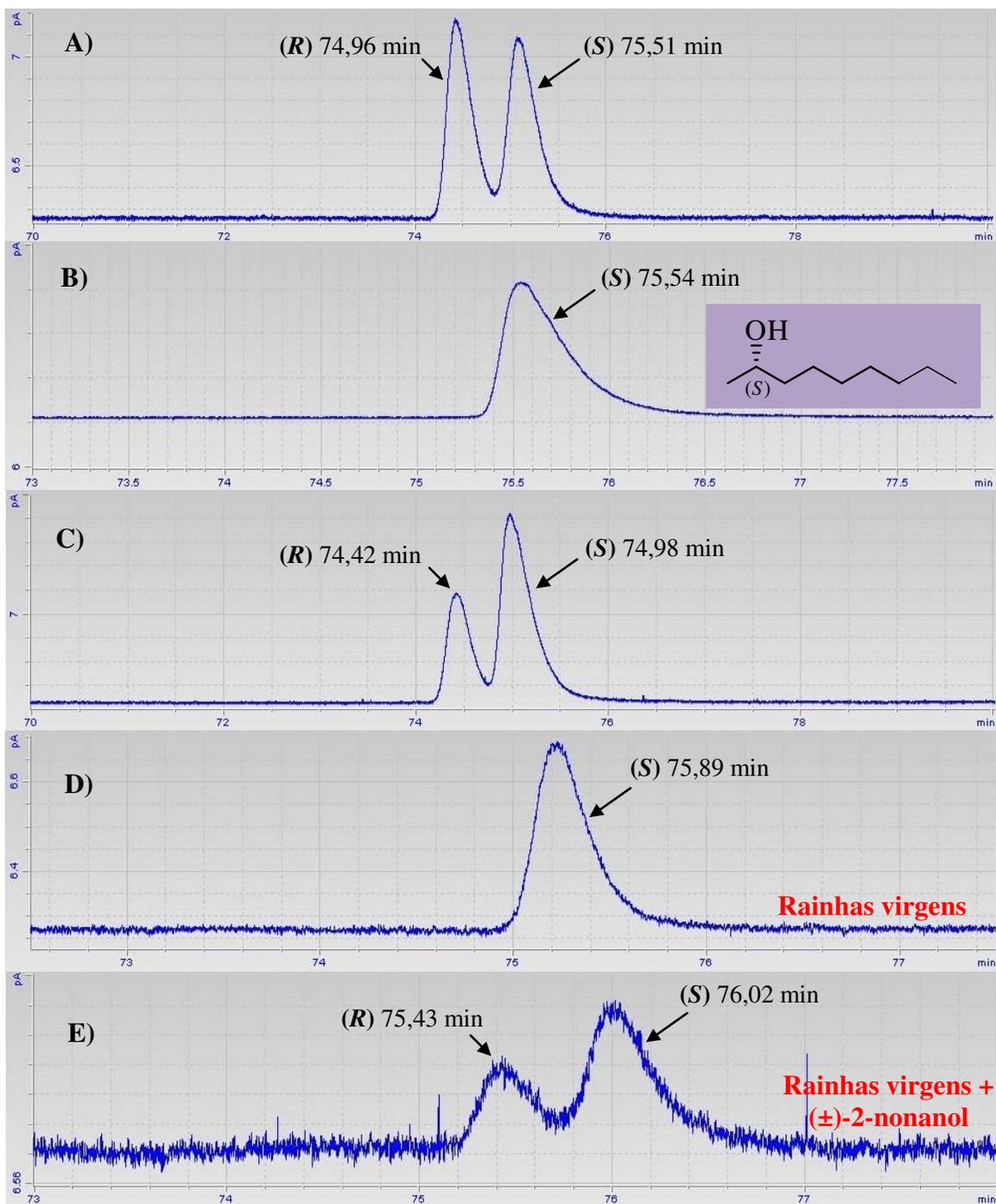
As composições químicas dos extratos cefálicos de machos, rainhas virgens (*in vitro* e RVIVA) e rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* (Tabela 7; Figuras 25A-D) são bem distintas e permitem diferenciar as castas e sexos. A presença majoritária de cetonas nos machos, 2-alcanóis nas rainhas virgens e hidrocarbonetos nas rainhas fisogástricas precisa ser investigada.

As configurações absolutas do (S)-2-nonanol e do (S)-2-heptanol dos extratos cefálicos de machos, rainhas virgens (*in vitro* e RVIVA) e rainhas

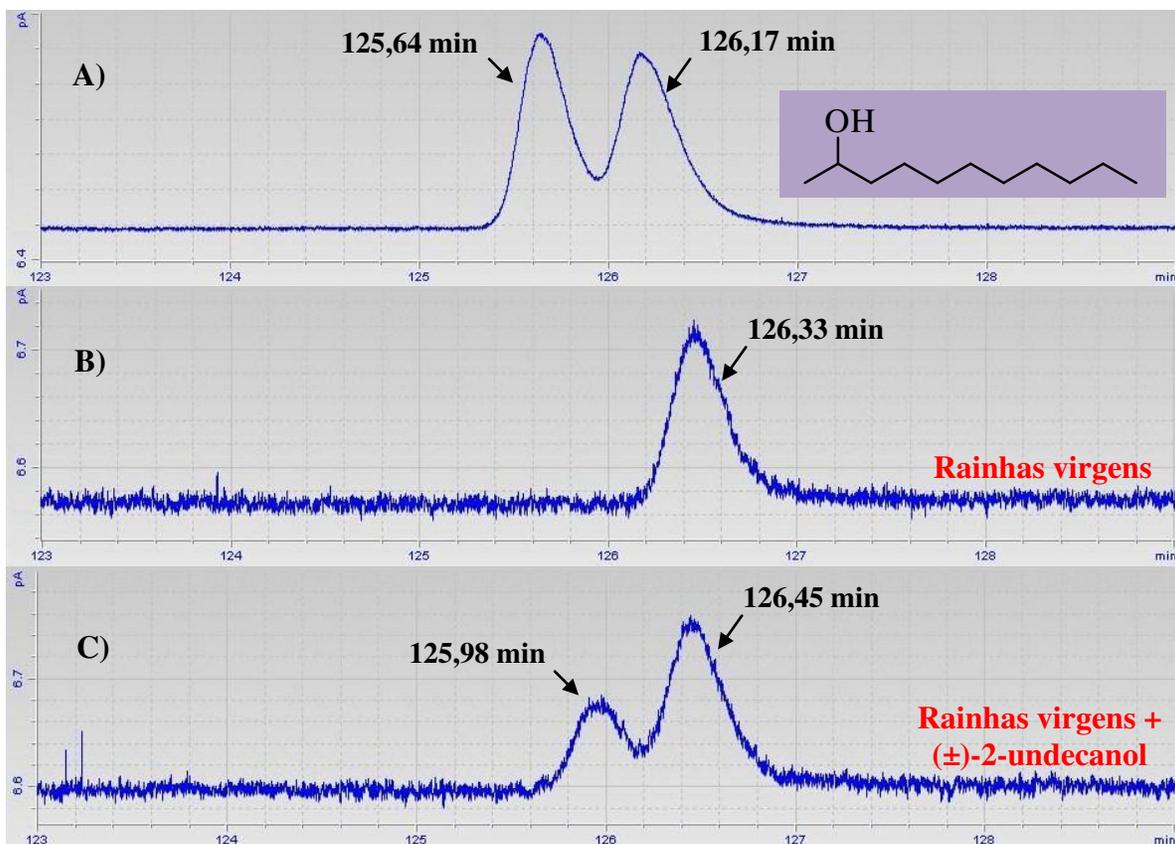
fisogástricas de *S. aff. depilis* foram determinadas por CG-FID (Parte Experimental, seção 8.1, pág. 119; Tabela 7; Figuras 26A-E e 27A-E abaixo). Os tempos de retenção dos dois enantiômeros do ( $\pm$ )-2-undecanol comercial e do 2-undecanol natural foram verificados empregando a coluna quiral Chrompack (Figuras 28A-C) e foi possível verificar que a eluição do 2-undecanol natural era compatível com o isômero de maior tempo de retenção (Figura 30C). Partindo do princípio que na mesma coluna quiral, o isômero de maior tempo de retenção para o 2-nonanol é o isômero 2-(*S*) (Figuras 27A-E), portanto, sugerimos que o 2-undecanol natural também seja 2-(*S*). A configuração 2-(*S*) já havia sido observada anteriormente para o 2-nonanol dos extratos cefálicos e abdominais de machos de *Plebeia droryana* (Pianaro *et al.*, 2009). A identificação da configuração absoluta é importante para testes de campo (Mori, 2007).



**Figura 26.** Configuração absoluta do 2-heptanol dos extratos cefálicos das rainhas virgens de *S. aff. depilis* Moure determinada por CG-DIC com a coluna quiral Lipodex-E (28 m x 0,25mm x 0,25  $\mu$ m): (A) ( $\pm$ )-2-heptanol comercial; (B) (*S*)-2-heptanol comercial; (C) mistura (2:1) do ( $\pm$ )-2-heptanol e do (*S*)-2-heptanol comercial; (D) 2-heptanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens; e (E) mistura (4:1) do 2-heptanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens e ( $\pm$ )-2-heptanol comercial.



**Figura 27.** Configuração absoluta do 2-nanol dos extratos cefálicos das rainhas virgens de *S. aff. depilis* Moure determinada por CG-DIC com a coluna quiral Chrompack CP-Chirasil-Dex CB (25 m x 0,25mm x 0,25  $\mu$ m): (A) (±)-2-nanol comercial; (B) (S)-2-nanol comercial; (C) mistura (2:1) do (±)-2-nanol e do (S)-2-nanol comerciais; (D) 2-nanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens; e (E) mistura (4:1) do 2-nanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens e (±)-2-nanol comercial.



**Figura 28.** Configuração absoluta do 2-undecanol dos extratos cefálicos das rainhas virgens de *S. aff. depilis* Moure determinada por CG-DIC com a coluna quiral Chrompack CP-Chirasil-Dex CB (25 m x 0,25mm x 0,25  $\mu$ m): (A) (±)-2-undecanol comercial; (B) 2-undecanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens; e (C) mistura (4:1) do 2-undecanol dos extratos cefálicos de rainhas virgens e (±)-2-undecanol comercial.

Engels e colaboradores (1993) verificaram que os 2-alcanóis (2-heptanol, 2-octanol, 2-nonanol, 2-decanol, 2-undecanol, 2-dodecanol, 2-tridecanol, 2-tetradecanol, 2-pentadecanol, 2-hexadecanol, 2-heptadecanol) estão presentes nos extratos cefálicos das rainhas de *S. postica* (com 3 a >50 dias de idade), além da presença de hidrocarbonetos, cetonas, ésteres, ácidos carboxílicos e outros alcoóis. Eles verificaram que as rainhas virgens de 10-12 dias possuíam de 60 a 80% da composição química dos extratos cefálicos com 2-alcanóis (Engels *et al.*, 1993). Testes de campo utilizando fantoches impregnados com os quatro dos 2-alcanóis majoritários (2-heptanol, 2-nonanol, 2-undecanol e 2-tridecanol) atraíram os machos de *S. postica*

presentes numa aglomeração (Engels *et al.*, 1990). Verdugo-Dardon e colaboradores (2011) também verificaram que os 2-alcanóis (2-heptanol, 2-nonanol e 2-undecanol) são os principais compostos dos extratos cefálicos das rainhas virgens de *S. mexicana*. Estes dois trabalhos demonstram que o padrão de compostos voláteis nos extratos cefálicos das rainhas virgens de *S. postica* e *S. mexicana* é constituído majoritariamente por 2-alcanóis e no caso deste trabalho com rainhas virgens de *S. aff. depilis* é composto exclusivamente de 2-alcanóis. Portanto, a presença e a proporção entre os 2-alcanóis é um grande diferencial das rainhas virgens destas espécies do gênero *Scaptotrigona*.

### 3.3. Testes preliminares de campo

O entendimento da linguagem química utilizada pelas abelhas sem ferrão é fundamental para compreender o uso dos diversos compostos voláteis exalados por suas glândulas exócrinas na comunicação entre os indivíduos dentro e fora do ninho, o que somente é obtido através da realização de bioensaios em laboratório e testes de campo dos compostos identificados.

A ocorrência de 2-alcanóis nas secreções cefálicas de operárias e rainhas de várias abelhas sem ferrão (*Frieseomelitta trichocerata*, *F. xanthopleura*, *F. silvestrii languida*, *Geotrigona mombuca*, *Lestrimelitta limão*, *S. postica*, *S. mexicana*, *Trigona hyalinata*, *T. spinipes*, *T. hypogea*, *T. truculenta*, *Tetragona clavipes* e *Tetragonisca angustula*) (Engels *et al.*, 1990; Francke *et al.*, 2000; Johnson *et al.*, 1985; Luby *et al.*, 1973; Verdugo-Dardon *et al.*, 2001) e a verificação do (S)-2-heptanol e do (S)-2-nonanol nos extratos cefálicos de rainhas de *M. quadrifasciata* e *S. aff. depillis* (Capítulo 1 – seções 3.1 e 3.2, págs. 50-52, 77-83) e de machos de *P. droryana* (Pianaro *et al.*, 2007) estimulou a verificação da função destes 2-alcanóis em testes de campo

com abelhas sem ferrão. Além disso, testes de campo com extratos, padrões sintéticos e comerciais e compostos isolados do extrato epicuticular de rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* (Capítulo 1 – seção 3.2, pág. 57; Parte Experimental – seção 8.5.2.1, pág. 134) foram também avaliados. Todos os testes foram realizados e interpretados com o auxílio do Dr. Cristiano Menezes e o MSc. Ayrton Vollet Neto (FFCLRP, USP/ Ribeirão Preto-SP). Os resultados são discutidos a seguir.

### 3.3.1. Resultados e discussão

Os 2-alcanóis comerciais [(*S*)-(+)-2-heptanol, (*S*)-(+)-2-nonanol, mistura do (*S*)-(+)-2-heptanol e (*S*)-(+)-2-nonanol (1:1), ( $\pm$ )-2-heptanol, ( $\pm$ )-2-nonanol e ( $\pm$ )-2-undecanol] foram utilizados em bioensaios de atratividade de longa distância. Portanto, a resposta seletiva de sete espécies diferentes de abelhas sem ferrão (*P. droryana*, *N. testaceicornis*, *S. aff. depilis*, *F. varia*, *F. silvestrii*, *T. angustula* e *Friesella schrottkyi*) foi observada quando os compostos foram colocados em tiras de papel de filtro num varal (Figura 29; Parte Experimental, seção 8.5.2.2, pág. 135).



**Figura 29.** Local dos ninhos das abelhas sem ferrão do teste de campo com os 2-alcanóis.  
Foto: Adriana Pianaro.

O (*S*)-(+)-2-heptanol e a mistura (*S*)-(+)-2-heptanol/(*S*)-(+)-2-nonanol (1:1) atraíram operárias de *P. droryana* (*N*= 4), *N. testaceicornis* (*N*= 2) e *Frieseomelitta silvestrii* (*N*= 6). Curiosamente, os 2-alcanóis racêmicos ((±)-2-heptanol, (±)-2-nonanol e (±)-2-undecanol) não foram atrativos, o que indica uma possível anulação do efeito atrativo do enantiômero (*S*) pelo enantiômero (*R*) presente na mistura racêmica.

Os 2-alcanóis não atraíram nenhum macho dos meliponíneos testados, o que chama atenção, pois o (*S*)-2-nonanol foi identificado nos extratos cefálicos de machos de *P. droryana* (Pianaro, 2007). Possivelmente, a atração seletiva exercida nas operárias de *P. droryana*, *N. testaceicornis* e *F. silvestrii* pelos (*S*)-2-alcanóis indica o uso de sinais específicos entre os sexos, pois se sabe que existem sinais químicos que são usados por machos e/ou rainhas que são detectados por operárias, vice-versa. Isto é notado no enxameamento para a formação de um novo ninho, onde rainhas virgens acompanham operárias para o novo local e os machos esperam lá antecipadamente, indicando que os odores da rainha são dispersos a partir do ninho (Roubik, 2006). Além disso, nos testes foi observado que as operárias voavam ao redor das tiras e, às vezes, em períodos curtos, algumas operárias posavam e não agrediam as fitas, sugerindo neste caso que os (*S*)-2-alcanóis não agem como feromônios de alarme para estas espécies (Luby *et al.*, 1973; Johnson *et al.*, 1985 e Francke *et al.*, 2000), mas feromônios de recrutamento de operárias.

Os padrões sintéticos e comerciais, frações de compostos naturais isolados e os extratos de rainhas de *S. aff. depilis* foram testados em aglomerados de machos de *S. aff. depilis* através de testes a curta e a longa distância. Os compostos foram adsorvidos em tiras de papel de filtro (varal), algodão e feltro preto (Figuras 30A-C; Parte Experimental, seção 8.5.2.2, pág. 135).



**Figura 30.** (A) Local dos testes de atratividade, em destaque vários ninhos de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure; (B) teste a curta distância (apresentando o composto ao aglomerado de machos) e (C) teste a longa distância (em varal). Em destaque o aglomerado de machos e as fitas de papel de filtro com os compostos e extratos testados. Fotos: Adriana Pianaro.

Os testes a longa distância com todos os extratos, padrões sintéticos e comerciais, compostos naturais isolados e misturas dos mesmos não atraíram os machos de *Scaptotrigona* aff. *depilis*.

Já nos testes a curta distância oferecendo os compostos e extratos em tiras de papel e algodão, os extratos epicuticulares das rainhas fisogástricas atraíram os machos, os quais dispersaram do aglomerado e perseguiram o material, mas sem copular. Os extratos epicuticulares e cefálicos das rainhas

virgens *in vitro* e demais extratos das rainhas fisogástricas (glândula de Dufour, glândulas terciais, cefálico e secreções anais) não foram atrativos. Os padrões sintéticos e comerciais (butirato de decila, butirato de dodecila, butirato de tetradecila, butirato de hexadecila, octanoato de decila, octanoato de dodecila, acetato de tetradecila, acetato de hexadecila, 2-nonadecanona, hexanoato de hexila, acetato de (Z)-9-tetradecenila, acetato de (Z)-9-hexadecenila, benzaldeído, *p*-hidroxibenzaldeído, 2,4-diidroxibenzaldeído e ácido gerânico) e misturas destes compostos sintéticos e comerciais deram respostas negativas, pois em nenhum caso os machos foram atraídos ou se dispersaram. Entretanto, como a mistura dos ésteres continha menos constituintes que a dos extratos epicuticulares das rainhas fisogástricas, considerou-se adequado ter a mistura natural dos ésteres para realizar os testes. A separação dos ésteres do extrato epicuticular foi alcançada através de coluna cromatográfica de sílica impregnada de nitrato de prata, onde se obteve uma fração com a mistura *n*-alcanos/metil alcanos, uma fração com *n*-alcenos, uma fração com a mistura de *n*-alcenos/ésteres e uma fração com acetatos insaturados (Parte Experimental, seção 8.5.2.1, pág. 134). Nos testes de campo a curta e a longa distância infelizmente estas frações não promoveram nenhuma resposta nos machos. A mistura de todas as frações, na mesma proporção, logrou uma resposta dos machos, que se dispersaram lentamente do aglomerado, mas sem perseguição ativa do material.

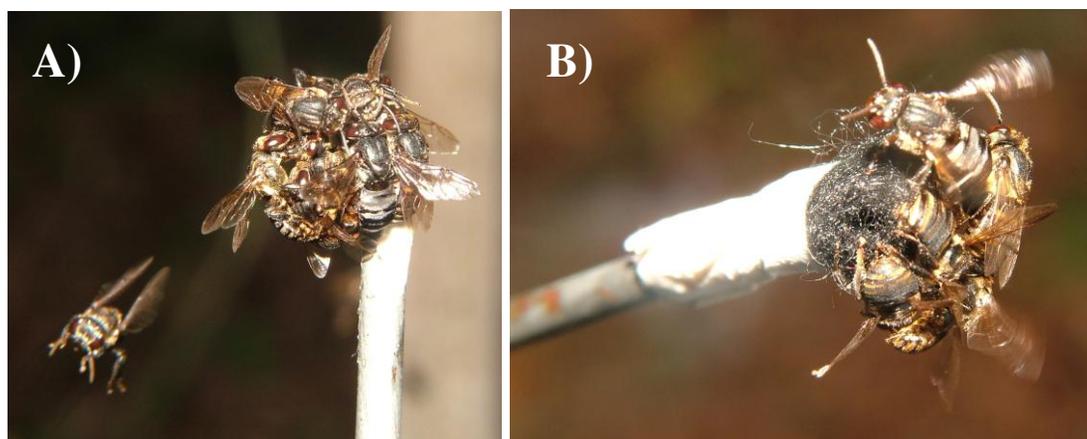
Nos testes a curta distância, a 2-heptanona, a 2-nonanona, a 2-undecanona e a mistura destas cetonas sintéticas (1:1:1) repeliram os machos, sendo a 2-heptanona mais eficiente. Estas cetonas foram identificadas nos extratos cefálicos dos machos de *S. aff. depilis* (Tabela 6; Capítulo 1 - seção 3.2, págs. 77-79), sugerindo que se tratam de feromônios de alarme. O (*S*)-2-heptanol e a mistura (*S*)-2-heptanol/(*S*)-2-nonanol (1:1) induziram uma

dispersão lenta, com saída de alguns machos do aglomerado e sem perseguição do material, como observado para a mistura das frações do extrato epicuticular das rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis*. O (S)-2-nonanol não induziu nenhuma resposta dos machos.

Segundo Verdugo-Dardon e colaboradores (2011), os 2-alcanóis (2-heptanol, 2-nonanol e 2-undecanol) presentes nos extratos cefálicos de rainhas virgens de *S. mexicana* são os responsáveis pela atração dos machos, o que foi evidenciado em testes de campo. Em nossos testes preliminares com machos de *S. aff. depilis*, os extratos cefálicos das rainhas virgens e fisogástricas não atraíram os machos, mas foram atraídos pelos extratos epicuticulares das rainhas fisogástricas. Estes dados revelam uma diferença entre os feromônios sexuais de espécies do mesmo gênero de abelhas sem ferrão.

A dispersão e perseguição do algodão e da tira de papel com o extrato epicuticular das rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis*, sem provocar a cópula dos machos, levou a concluir que os machos necessitavam de um estímulo visual para realizar o ato de acasalamento com o material. Portanto, o extrato epicuticular das rainhas fisogástricas, as frações dos compostos naturais isolados, a mistura das frações e os padrões sintéticos e comerciais que induziram uma resposta dos machos [(S)-2-heptanol, a mistura (S)-2-heptanol/(S)-2-nonanol (1:1), 2-heptanona, a 2-nonanona, a 2-undecanona e a mistura destas cetonas sintéticas (1:1:1)] foram depositados num material escuro, no caso um feltro preto, pois a rainha virgem atrativa e a rainha fisogástrica são escuras. Foi observado o mesmo comportamento anterior para as frações, misturas das frações e os padrões, porém o extrato epicuticular das rainhas fisogástricas sobre o feltro induziram, desta vez, um atração forte dos machos, os quais copularam com o feltro preto (Figuras 31A e 31B). Este experimento confirma que foram extraídos todos os compostos atrativos que

induzem a cópula dos machos de *S. aff. depilis* e que os machos necessitam de um estímulo visual.



**Figura 31.** (A) Machos de *Scaptotrigona aff. depilis* Moure atraídos pelo pedaço de feltro preto com o extrato epicuticular das rainhas fisogástricas, cobrindo-o totalmente, e (B) copulando com o feltro mesmo após 2 min de observação. Fotos: Ayrton Vollet Neto.

### 3.4. Conclusões parciais

Este trabalho revelou que as rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdomes inflados exalam uma mistura de nerol/geraniol, na razão 1:2, respectivamente, na presença de outras rainhas virgens, os quais são liberados pelas glândulas terçais do abdome. Estes monoterpenos indicam o nível de maturidade das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* e auxiliam as operárias a verificarem o excesso de rainhas virgens presentes no ninho, levando a expulsão ou extermínio destas rainhas. Além disso, estes monoterpenos podem estar envolvidos na seleção de uma nova rainha.

A análise dos extratos epicuticulares de machos, rainhas virgens (*in vitro* e RVIVA) e rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* revelaram a presença de ésteres somente nos extratos das rainhas fisogástricas e RVIVA, os quais foram encontrados nos extratos das glândulas terçais e de Dufour de rainhas fisogástricas e virgens. Os extratos cefálicos de machos e rainhas (virgens,

RVIVA e fisogástricas) possuem uma composição química totalmente diferente, o que auxilia na diferenciação entre as castas e os sexos.

Nos testes de campo, o (S)-(+)-2-heptanol e a mistura (S)-(+)-2-heptanol/(S)-(+)-2-nonanol (1:1) atraíram somente operárias de *P. droryana*, *N. testaceicornis* e *Frieseomelitta silvestrii*, o que confirma o motivo da predominância da configuração absoluta (S) entre os 2-alcanóis e evidência a importância da determinação da configuração absoluta dos compostos identificados. Estes dados foram publicados recentemente (Pianaro *et al.*, 2009).

Os testes de campo a longa distância com os extratos das rainhas de *S. aff. depilis*, os padrões e as frações não atraíram os machos de *Scaptotrigona aff. depilis*. Nos testes a curta distância, os extratos epicuticulares das rainhas fisogástricas de *Scaptotrigona aff. depilis* atraíram e estimularam a cópula dos machos quando testados num pedaço de feltro preto, levando a concluir que os machos além do estímulo químico necessitam de um estímulo visual pois quando testado em algodão e tiras de papel somente induzia a dispersão do aglomerado de machos sem estimular a cópula. A resposta negativa dos extratos epicuticulares das rainhas fisogástricas nos testes a longa distância indica que os machos de *Scaptotrigona aff. depilis* necessitam de outro composto volátil para formarem aglomerados perto da entrada do ninho.

Os compostos isolados do extrato epicuticular das rainhas fisogástricas de *Scaptotrigona aff. depilis* não induzem nenhuma resposta nos machos, mas somente uma dispersão lenta quando estão todos juntos em mistura, levando a concluir que não há atração dos machos com os compostos separados e que é necessária uma proporção correta dos compostos para ocorrer à atração e cópula.



---

# CAPÍTULO 2

---



## **4. Capítulo 2 - Composição química do veneno de operárias e rainhas das formigas “lava-pés” *Solenopsis saevissima* Smith (Hymenoptera: Formicidae) e a variação de estereoisômeros das solenopsinas e isosolenopsinas**

### **4.1. Composição química do veneno de operárias e rainhas das formigas “lava-pés” *Solenopsis saevissima* Smith**

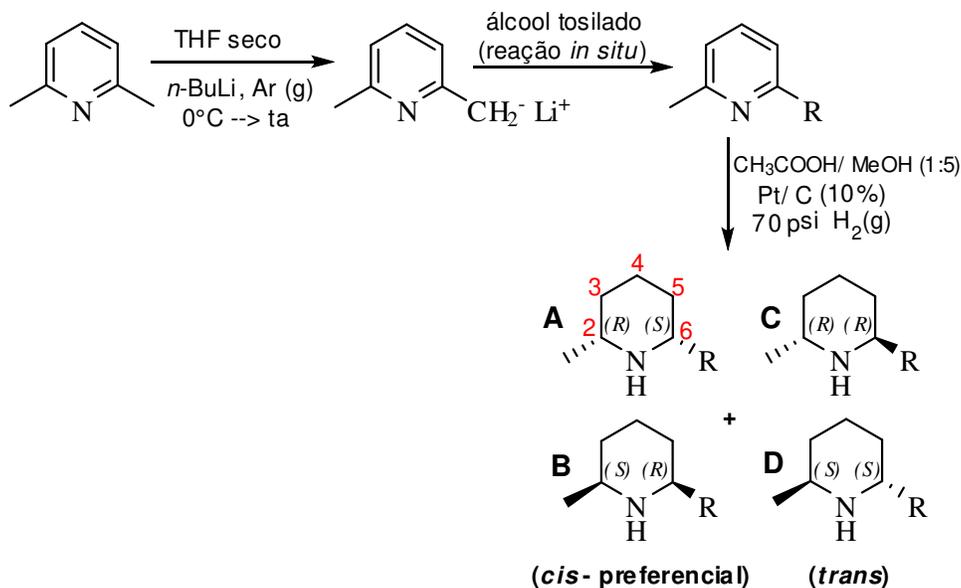
A ocorrência de operárias polimórficas (com variação de tamanho) nas formigas lava-pés e a variação da composição química do veneno entre as espécies levantou a questão da diversidade da composição e configuração dos alcalóides do veneno de operárias e rainhas da mesma espécie. Por isso, os venenos de operárias e rainhas de formigas *S. saevissima* da região sudeste do Brasil foram monitorados, especificadamente de 5 ninhos do distrito de Pedro do Rio, Petrópolis-RJ, e 3 ninhos de Ubatuba-SP. Este trabalho foi realizado em colaboração com o Dr. Eduardo G. P. Fox e o Prof. Dr. Odair C. Bueno (UNESP, Rio Claro-SP).

#### **4.1.1. Resultados e discussão**

As operárias de *S. saevissima* foram separadas em laboratório dentro de classes de tamanhos diferentes (intervalo de tamanho, peso médio  $\pm$  SD): operárias pequenas (1–2 mm;  $0,40 \pm 0,08$  mg), operárias médias (3–4 mm;  $0,9 \pm 0,18$  mg) e operárias grandes (5–6 mm;  $2,0 \pm 0,52$  mg). As rainhas (não acasaladas,  $3,1 \pm 0,2$  mg) foram analisadas individualmente (Fox *et al.*, 2012).

Os sacos de veneno de operárias e rainhas foram dissecados e o veneno foi extraído e analisado por CG-EM (Parte Experimental, seções 8.1, 8.6 e 8.6.1, págs. 119 e 138). Os alcalóides piperidínicos foram identificados pela comparação de seus espectros de massas com dados relatados na literatura (Brand *et al.*, 1972; Leclercq *et al.*, 1996). Para determinar a configuração relativa (*cis* e *trans*) dos alcalóides piperidínicos do veneno de formigas *S. saevissima* foram preparados padrões racêmicos da (±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas, (±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas e (±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas.

As misturas racêmicas foram obtidas a partir da reação do carbânion da 2,6-dimetilpiridina (formado “*in situ*” pela reação da lutidina com *n*-butil-lítio) com o álcool tosilado (C-10 ou C-12 ou C-14) correspondente levando à formação da 2-metil-6-alkilpiridina (2-metil-6-undecilpiridina, 2-metil-6-tridecilpiridina e 2-metil-6-pentadecilpiridina), as quais foram submetidas à hidrogenação catalítica fornecendo misturas racêmicas das 2-metil-6-alkilpiperidinas correspondentes (Esquema 3; Parte Experimental, seções 8.1 e 8.6.2, págs. 119 e 142). A rota sintética, como apresentada no Esquema 3, não atentou a qualquer seletividade ou otimização de rendimento, tendo como objetivo único a obtenção dos padrões racêmicos *cis* e *trans* das solenopsinas e isosolenopsinas para as análises cromatográficas, com razões diastereoméricas diferentes de 1:1 que permitem o reconhecimento por CG através de suas abundâncias relativas. Os produtos reacionais de todas as etapas foram identificados por CG-EM, IV, RMN de  $^{13}\text{C}$ , RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135° e 90° (Anexos A19-A54, págs. 183-200).



**Esquema 3.** Síntese das misturas racêmicas dos alcalóides piperidínicos.

**Tabela 8.** Rendimento e razão diastereomérica dos alcalóides sintetizados

Entrada	Composto	Rendimento após purificação (%)	<i>rd</i> * ( <i>cis:trans</i> )
1	2-metil-6-undecilpiridina	19	-
2	2-metil-6-tridecilpiridina	24	-
3	2-metil-6-pentadecilpiridina	15	-
4	(±)- <i>cis</i> e (±)- <i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidinas	99	81:19
5	(±)- <i>cis</i> e (±)- <i>trans</i> -2-metil-6-tridecilpiperidinas	89	97:3
6	(±)- <i>cis</i> e (±)- <i>trans</i> -2-metil-6-pentadecilpiperidinas	65	93:7

\**rd*: razão diastereomérica, obtida por CG-EM com coluna DB-5.

A hidrogenação catalítica das 2-metil-6-alkil-piridinas com Pt/C (10%) em ácido acético/ metanol (1:5) foi determinante na síntese dos alcalóides porque favoreceu a obtenção majoritária dos estereoisômeros *cis* para todas as dialquilpiperidinas (Tabela 8, entradas 4, 5 e 6). A caracterização das dialquilpiperidinas foi realizada pelos deslocamentos químicos nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , sendo observado dois sinais em 2,69 e 2,86 ppm dos H-2 e H-6 dos isômeros *cis* e nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  foi observado os sinais em

52,9 e 57,3 ppm para os carbonos C-2 e C-6 (Anexos A43-A54, págs. 195-200). Os isômeros *trans* foram caracterizados a partir de amostras de veneno de rainhas e operárias de formigas *S. saevissima* pelos deslocamentos químicos dos hidrogênios H-2 e H-6 em 3,20 e 3,50 ppm e para os carbonos C-2 e C-6 em 45,8 e 50,8 ppm (Anexos A55-A58, págs. 201-203; Parte Experimental, seções 8.1 e 8.6.1.1, págs. 119 e 139), estes dados estão de acordo com a literatura (Girard *et al.*, 2004, 2005; Jefford e Wang, 1993; Leclercq *et al.*, 1994; Poerwono *et al.*, 1998). O deslocamentos dos hidrogênios da metila na posição 2 não são visualizados no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , pois ressonam na mesma frequência que os metilenos. Porém nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  foi possível distinguir os isômeros *cis* que apresentam o sinal da metila do C-2 na faixa de 18,0 ppm e dos isômeros *trans* que apresentam sinal de metila do C-2 na faixa de 21,0 ppm (Girard *et al.*, 2004, 2005; Jefford e Wang, 1993; Leclercq *et al.*, 1994; Poerwono *et al.*, 1998). Assim, foi possível fazer as análises por CG-EM, com coluna capilar MDN-5S ou DB-5, com estes padrões racêmicos de todos os alcalóides e obtive um comportamento cromatográfico onde todos os isômeros *cis* eluem antes dos isômeros *trans*. Este fato juntamente com os tempos de retenção de cada alcalóide e a fragmentação de seus espectros de massas permitiu obter a configuração relativa dos alcalóides do veneno de operárias e rainhas de formigas *S. saevissima* a partir de nanogramas de amostra (Tabela 9).

**Tabela 9.** Alcalóides identificados no veneno da formiga *Solenopsis saevissima* Smith

Compostos	Abreviações	Íons diagnósticos - <i>m/z</i> (abundância relativa em %)*	<i>t<sub>R</sub></i> <sup>δ</sup>	IR <sub>(calc.)</sub> <sup>δ</sup>
<i>cis</i> -2-metil-6-undecilpiperidina	<i>cis</i> -MP-C11:1	251 (M <sup>+</sup> ; 3), 236 (3), 180 (11), 124 (46), 111 (22), 98 (100)	15,17	2034
<i>cis</i> -2-metil-6-undecilpiperidina	<i>cis</i> -MP-C11	253 (M <sup>+</sup> ; 2), 252 (3), 238 (4), 98 (100)	15,42	2071
<i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidina	<i>trans</i> -MP-C11:1	251 (M <sup>+</sup> ; 3), 236 (3), 180 (11), 124 (46), 111 (22), 98 (100)	15,53	2087
<i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidina	<i>trans</i> -MP-C11	253 (M <sup>+</sup> ; 0,1), 252 (2), 238 (4), 98 (100)	15,75	2119
<i>cis</i> -2-metil-6-tridecilpiperidina	<i>cis</i> -MP-C13:1	279 (M <sup>+</sup> ; 1), 278 (2), 124 (26), 111 (21), 98 (100)	17,01	2304
<i>cis</i> -2-metil-6-tridecilpiperidina	<i>cis</i> -MP-C13	280 (M <sup>+</sup> -1; 1), 266 (1), 98 (100)	17,24	2338
<i>trans</i> -2-metil-6-tridecilpiperidina	<i>trans</i> -MP-C13:1	279 (M <sup>+</sup> ; 4), 264 (4), 180 (7), 124 (45), 111 (39), 98 (100)	17,33	2351
<i>trans</i> -2-metil-6-tridecilpiperidina	<i>trans</i> -MP-C13	280 (M <sup>+</sup> -1; 1), 266 (1), 98 (100)	17,57	2387
<i>cis</i> -2-metil-6-pentadecilpiperidina	<i>cis</i> -MP-C15	308 (M <sup>+</sup> -1; 0,1), 294 (0,1), 280 (0,1), 98 (100)	18,92	2602
<i>trans</i> -2-metil-6-pentadecilpiperidina	<i>trans</i> -MP-C15	308 (M <sup>+</sup> -1; 2), 294 (3), 280 (1), 98 (100)	19,25	2656

<sup>δ</sup>*t<sub>R</sub>* = tempos de retenção, em minutos (min); IR (calc.) = índices de retenção calculados (Van den Dool e Kratz, 1963).

\*Os compostos foram identificados por dados de CG-EM reportados por Brand *et al.*, 1972; Leclercq *et al.*, 1994; MacConnell *et al.*, 1971; e Glorius *et al.*, 2004.

**Tabela 10.** Composição dos alcalóides piperidínicos (abundância relativa em %) de cinco ninhos da formiga *Solenopsis saevissima* Smith de Pedro do Rio-RJ

Compostos <sup>δ</sup>	Ninho 1				Ninho 2				Ninho 3				Ninho 4				Ninho 5			
	OP*	OM*	OG*	R*																
<i>cis</i> -MP-C11:1	-	-	-	-	-	-	-	<1,0	-	-	-	<1,0	-	-	-	<1,0	-	-	-	<1,0
<i>cis</i> -MP-C11	-	-	-	33,2	1,3	1,7	5,2	81,1	6,4	10,0	13,7	57,9	4,00	7,00	11,0	55,0	4,9	11,4	18,9	53,2
<i>trans</i> -MP-C11:1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1,0
<i>trans</i> -MP-C11	-	-	-	35,2	98,7	98,3	94,8	10,0	93,6	90,0	86,3	40,1	96,0	93,0	89,0	41,8	95,1	88,6	81,1	43,3
<i>cis</i> -MP-C13:1	-	35,8	49,7	17,7	-	-	-	1,4	-	-	-	1,6	-	-	-	2,1	-	-	-	1,9
<i>cis</i> -MP-C13	-	-	-	4,0	-	-	-	-	-	-	-	<1,0	-	-	-	<1,0	-	-	-	<1,0
<i>trans</i> -MP-C13:1	100,0	64,2	50,3	7,8	-	-	-	-	-	-	-	<1,0	-	-	-	<1,0	-	-	-	<1,0
<i>trans</i> -MP-C13	-	-	-	2,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Não identificados	-	-	-	-	-	-	-	7,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*OP = operárias pequenas; OM = operárias médias; OG = operárias grandes; R = rainhas não acasaladas; (-) = não encontrados.

<sup>δ</sup>Abreviações dos nomes dos compostos de acordo com a Tabela 9.

**Tabela 11.** Composição dos alcalóides piperidínicos (abundância relativa em %) de três ninhos da formiga *Solenopsis saevissima* Smith de Ubatuba-SP

Compostos <sup>δ</sup>	Ninho 6		Ninho 7		Ninho 8	
	OP*	R*	OP*	R*	OP*	R*
<i>cis</i> -MP-C11:1	<1,0	-	-	-	<1,0	-
<i>cis</i> -MP-C11	17,8	85,5	1,3	80,5	18,8	67,1
<i>trans</i> -MP-C11:1	1,9	-	<1,0	-	<1,0	-
<i>trans</i> -MP-C11	53,6	14,5	3,6	19,5	20,6	32,9
<i>cis</i> -MP-C13:1	2,3	-	2,1	-	21,9	-
<i>cis</i> -MP-C13	<1,0	-	<1,0	-	5,7	-
<i>trans</i> -MP-C13:1	11,1	-	51,5	-	18,4	-
<i>trans</i> -MP-C13	4,5	-	10,2	-	5,2	-
<i>cis</i> -MP-C15	3,5	-	21,8	-	1,5	-
<i>trans</i> -MP-C15	1,5	-	6,2	-	<1,0	-
Não identificados	6,8	-	2,9	-	3,1	-

\*OP = operárias pequenas; R = rainhas não acasaladas; (-) = não encontrados.

<sup>δ</sup>Abreviações dos nomes dos alcalóides de acordo com a Tabela 9.

As análises do veneno de **operárias de *S. saevissima* do ninho 1** de Pedro do Rio-RJ (Tabelas 9 e 10) revelou que é constituído de *cis*- e *trans*-2-metil-6-tridecenilpiperidinas, enquanto o veneno de **rainhas** consiste de uma mistura de *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (compostos majoritários), *cis*- e *trans*-2-metil-6-tridecenilpiperidinas e *cis*- e *trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas (Tabelas 9 e 10).

O veneno de **operárias de *S. saevissima* dos ninhos 2 a 5** de Pedro do Rio-RJ consiste da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas, enquanto o veneno de **rainhas** é constituído de uma mistura da *cis*-2-metil-6-undecilpiperidina, *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (compostos majoritários), *cis*- e *trans*-2-metil-6-tridecenilpiperidinas e *cis*-2-metil-6-tridecilpiperidina (Tabelas 9 e 10).

O veneno de **operárias pequenas de *S. saevissima* dos ninhos 6 a 8** de Ubatuba-SP (Tabelas 9 e 11) consiste de uma mistura da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas, *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas, *cis*- e *trans*-2-metil-6-tridecenilpiperidinas, *cis*- e *trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas e *cis*- e *trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas, enquanto o veneno de **rainhas** é

constituído somente da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (Tabelas 9 e 11).

As análises do veneno de operárias de *S. saevissima* dos ninhos do Pedro do Rio-RJ (Tabela 10) revelaram que existe uma variação na composição química de acordo com o tamanho da operária, pois conforme aumenta o tamanho da operária ocorre um aumento na razão isomérica *cis/trans* dos alcalóides. As rainhas possuem uma razão isomérica *cis/trans* maior do que 1, ou seja presença majoritária dos isômeros *cis* dos alcalóides piperidínicos. A diferenciação na composição e na estereoquímica dos alcaloides entre as castas de indivíduos de um mesmo ninho nunca foi relatada para *Solenopsis saevissima*, porém alcalóides casta-específicos já foram observados em *S. maboya* e *S. torresi* (Torres *et al.*, 2001). O interessante foi verificar que a composição química das operárias e rainhas do ninho 1 é diferente dos ninhos 2 a 5 do Rio de Janeiro (Tabela 10), o que demonstra uma variação dentro da mesma espécie em uma mesma região do Brasil.

O veneno de operárias pequenas dos três ninhos de Ubatuba-SP (Tabela 11) é diferente da composição química do veneno de rainhas, sendo o veneno de operárias composto de uma mistura mais complexa de alcalóides com predominância dos isômeros *trans* e, conseqüentemente, com uma razão isomérica *cis/trans* menor do que 1. O veneno de rainhas possui uma composição química bem mais simples com a presença única da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas, com predominância do isômero *cis* (Tabela 11).

A comparação entre a composição química dos venenos de operárias e rainhas de *S. saevissima* de São Paulo e do Rio de Janeiro revelou uma variação dentro da mesma espécie em regiões diferentes do Brasil (Tabelas 10 e 11), pois as operárias pequenas de São Paulo possuíam uma composição mais complexa de alcalóides ao contrário das operárias pequenas do Rio de

Janeiro, o fato inverso foi observado entre as rainhas (Tabelas 10 e 11). Por causa da falta de operárias grandes e médias nos ninhos de Ubatuba-SP não foi possível realizar uma comparação entre estas operárias dos ninhos das duas regiões analisadas.

A importância da variação da composição química do veneno entre as operárias e rainhas intra e interninhos precisa ainda ser biologicamente avaliada. A única coisa que se sabe é que as operárias utilizam o veneno em suas atividades de defesa, enquanto a rainha raramente realiza este tipo de atividade (Vargo, 1997).

#### **4.2. Variação de estereoisômeros das solenopsinas e isosolenopsinas do veneno de formigas “lava-pés” *Solenopsis saevissima* Smith**

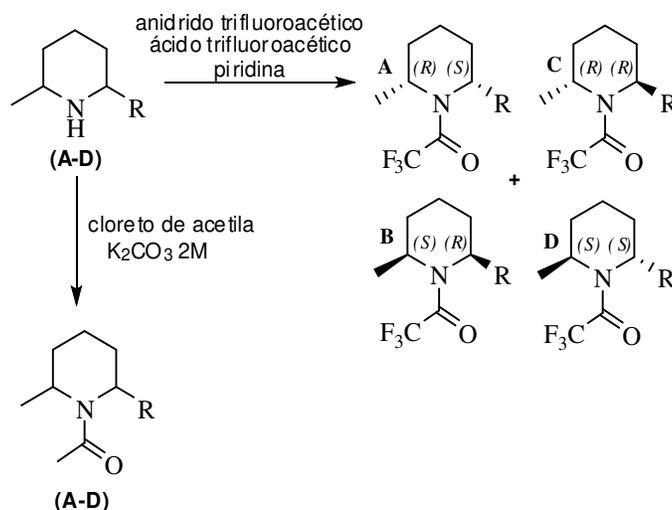
Diante da diversidade dos alcalóides piperidínicos no veneno de operárias e rainhas de *S. saevissima* do RJ e SP (Tabelas 10 e 11) levantou-se a possibilidade de uma configuração absoluta diferente para os alcalóides *cis* e *trans* em cada casta. De acordo com a literatura, os trabalhos tomam por base o estudo de configuração absoluta realizado por Leclercq e colaboradores (1994, 1996) com venenos de formigas *S. invicta* e *S. geminata*, onde verificaram que a configuração absoluta dos alcalóides *trans* era sempre (2*R*,6*R*) e para os alcalóides *cis* era (2*R*,6*S*), determinada pela derivatização do grupo amino dos alcalóides em amidas diastereoisoméricas com o cloreto do ácido (*R*)- $\alpha$ -metóxi- $\alpha$ -trifluorometil-fenil acético (MTPA-Cl), o denominado método de Mosher, por RMN de  $^1\text{H}$  e CLAE.

Não existe trabalho algum sobre o mapeamento rápido da configuração absoluta destes alcalóides, portanto nós propusemos realizar uma avaliação dos alcalóides piperidínicos de *S. saevissima* através do desenvolvimento de um método alternativo ao método de Leclercq e colaboradores (1994) através do desenvolvimento de uma metodologia mais rápida e barata por cromatografia gasosa com coluna capilar quirál (CG-EM e CG-DIC).

#### 4.2.1. Resultados e discussão

O acesso rápido das configurações absolutas dos alcalóides do veneno de *S. saevissima* foi realizado primeiramente pela seleção de uma coluna cromatográfica com uma fase estacionária quirál apropriada para as análises de CG-EM e CG-DIC empregando os padrões racêmicos sintéticos dos alcalóides piperidínicos [(±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas, da (±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas e da (±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas]. A seleção de uma das fases estacionárias quirais entre as colunas cromatográficas capilares Chrompack CP-chirasil-Dex CB, Lipodex E octakis-(3-*O*-butiril-2,6-di-*O*-pentil)- $\gamma$ -ciclodextrina e Heptakis-(2,6-di-*O*-metil-3-*O*-pentil)- $\beta$ -ciclodextrina (Parte Experimental, seção 8.1, pág. 119) resultou em nenhuma discriminação enantiomérica satisfatória com os alcalóides sintéticos. Por causa disto, os alcalóides foram derivatizados com cloreto de acetila e anidrido trifluoroacético (Parte Experimental – seções 8.6.2.4 e 8.6.2.5, págs. 151-152) fornecendo derivados acetamidas e trifluoroacetamidas (Esquema 4; Bamane *et al.*, 2011; Kusch *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2006), respectivamente, e foram submetidos às análises por

CG-EM e CG-DIC utilizando as três colunas capilares quirais descritas (Parte Experimental, seção 8.1, pág. 119; Anexos A63-A68, págs. 207-208).



**Esquema 4.** Derivatização dos alcalóides piperidínicos das misturas racêmicas sintéticas.

A discriminação diastereomérica e enantiomérica foi bem sucedida com as trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas e da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas utilizando a coluna quiral Chrompack CP-chirasil-Dex CB, discriminando os dois pares de enantiômeros dos alcalóides *cis* e *trans* derivatizados (Tabela 12, entradas 1-2; Figuras 32A e 32B). A razão diastereomérica foi determinada pela comparação das abundâncias relativas dos isômeros *cis:trans* das trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (A-D) nas análises por CG-EM e CG-DIC quiral, com base nas caracterizações anteriores de CG-EM e RMN de <sup>13</sup>C das ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (A-D) não derivatizadas (Esquema 4; Tabela 12, entrada 1; Figura 32A). O mesmo raciocínio combinando CG quiral e RMN de <sup>13</sup>C das ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas foi aplicado para seus derivados trifluoroacetamidas, que também foram discriminados por coluna capilar de ciclodextrina Chrompack (Tabela 12, entrada 2; Figura 32B). Entretanto, os

derivados trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas não foram resolvidos utilizando esta metodologia (Tabela 12, entrada 3; Figura 32C). As resoluções dos estereoisômeros da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas foram conseguidas com a mesma metodologia e coluna capilar quirral, mas usando derivados acetamidas (Esquema 4; Tabela 12, entrada 6; Figura 32F). Os derivados acetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas e da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas também obtiveram uma boa resolução por esta metodologia (Esquema 4; Tabela 12, entradas 4 e 5; Figuras 32D e 32E). Provavelmente, por causa da diminuição de basicidade, de amina secundária para amida, os derivados obtiveram esta melhora na resolução cromatográfica. É interessante observar que os isômeros *trans* das dialquilpiperidinas trifluoroacetiladas e acetiladas eluem antes dos isômeros *cis*, um comportamento inverso ao observado nos alcalóides não derivatizados (ver pág. 98).

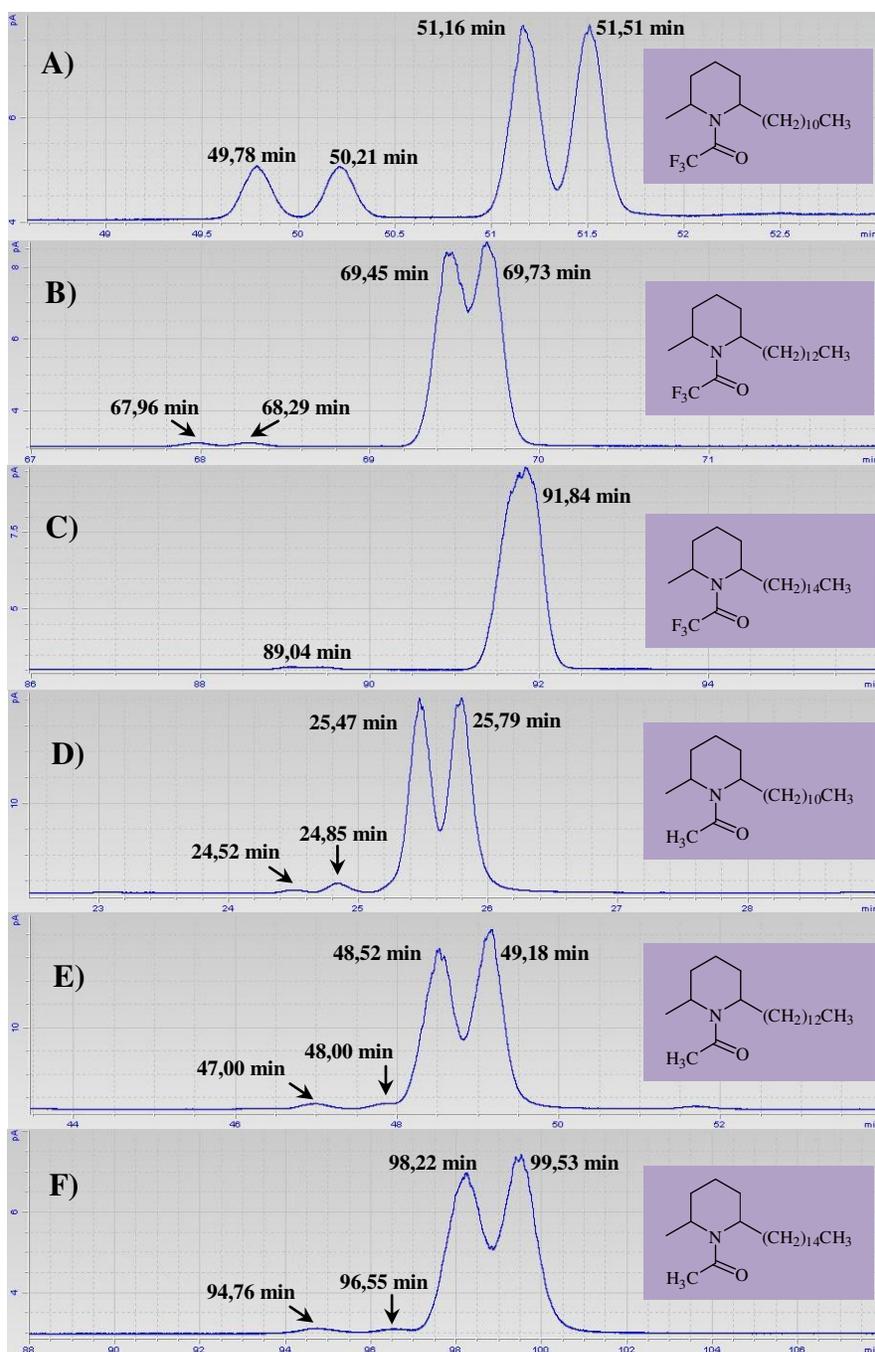
**Tabela 12.** Razão diastereomérica e tempos de retenção das trifluoroacetamidas e acetamidas das misturas racêmicas dos alcalóides piperidínicos por CG quirral

Entrada	Composto	<i>rd</i> ( <i>cis:trans</i> ) <sup>δ</sup>	<i>t<sub>R</sub></i> (min) - <i>trans</i> <sup>δ</sup>	<i>t<sub>R</sub></i> (min) - <i>cis</i> <sup>δ</sup>
1	trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidinas	77:23	49,78; 50,21	51,16; 51,51
2	trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-tridecilpiperidinas	95:5	67,96; 68,29	69,45; 69,73
3	trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-pentadecilpiperidinas <sup>a</sup>	97:3	89,04	91,84
4	acetamidas da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-undecilpiperidinas*	95:5	24,52; 24,85	25,47; 25,79
5	acetamidas da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-tridecilpiperidinas	93:8	47,00; 48,00	48,52; 49,18
6	acetamidas da ( $\pm$ )- <i>cis</i> - e ( $\pm$ )- <i>trans</i> -2-metil-6-pentadecilpiperidinas	94:6	94,76; 96,55	98,22; 99,53

<sup>a</sup>Trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas não separaram em nenhuma coluna capilar quirral avaliada.

<sup>δ</sup>*rd* = razão diastereomérica; *t<sub>R</sub>* = tempo de retenção utilizando a coluna capilar quirral Chrompack CP-chirasil-Dex CB no CG-DIC.

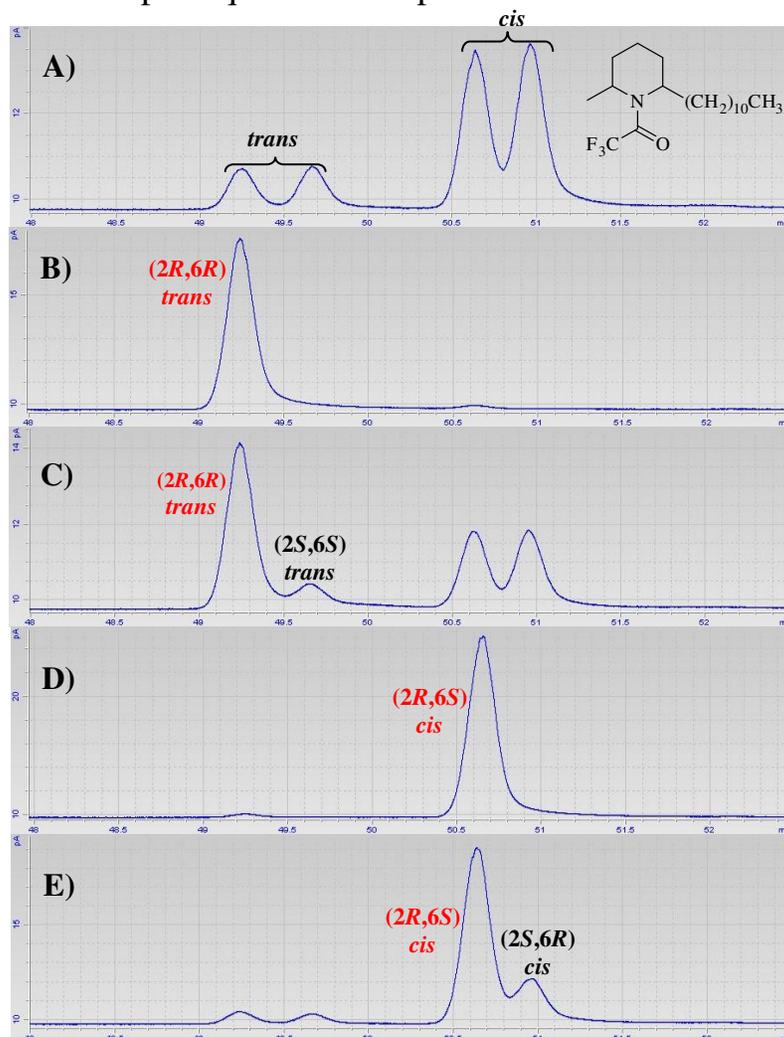
\*Acetamidas obtidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas de uma segunda reação.



**Figura 32.** Separações quirais por CG-DIC (coluna quiral Chrompack CP-chirasil-Dex CB; 25 m x 0,25mm x 0,25  $\mu$ m) das (A) trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (A-D); (B) trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas (A-D); (C) trifluoroacetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas (A-D); (D) acetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (A-D); (E) acetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas (A-D); e (F) acetamidas da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas (A-D). Obs.: Os isômeros *cis* são os picos maiores em todos os cromatogramas que eluem depois dos isômeros *trans*.

O tempo de retenção e a configuração absoluta de cada estereoisômero dos derivados trifluoracetamida da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas foram determinados utilizando as amostras de veneno de rainhas dos ninhos 3 e 4 com altas razões enantioméricas de cada isômero *cis* e *trans* (Tabela 13, entradas 3-4 - R). Os diastereoisômeros da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas do veneno das rainhas foram purificados em coluna cromatográfica de sílica gel fornecendo duas frações com alta razão diastereomérica dos alcalóides *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas e, em sequência, foi obtido o hidrocloreto destes alcalóides (Parte Experimental, seções 8.1 e 8.6.1.2, págs. 119 e 140). A rotação óptica específica dos hidrocloretos da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas {*trans*-2-metil-6-undecilpiperidina.HCl:  $[\alpha]_D^{20} -4^\circ$  (c = 0,67, CHCl<sub>3</sub>); *cis*-2-metil-6-undecilpiperidina.HCl:  $[\alpha]_D^{20} +7^\circ$  (c = 0,6, CHCl<sub>3</sub>)} em comparação com os dados relatados na literatura {(2*R*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina.HCl (isômero *trans*): lit.  $[\alpha]_D^{20} -7,7^\circ$  (c = 0,51, CHCl<sub>3</sub>) (Jefford e Wang, 1993); (2*R*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina.HCl (isômero *cis*): lit.  $[\alpha]_D^{24} +10,0^\circ$  (c = 1,1, CHCl<sub>3</sub>) (Poerwono *et al.*, 1998)} forneceu a configuração absoluta de cada isômero natural (Anexos A59-A62, págs. 204-206). Na sequência, os estereoisômeros (2*R*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina e (2*R*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina isolados foram derivatizados com anidrido trifluoroacético, analisados por CG-DIC com a coluna quiral Chrompack CP-chirasil-Dex CB e co-injetados com os derivados trifluoracetilados da mistura racêmica sintética (Figuras 33A-E). Consequentemente, a co-eluição do derivado trifluoracetamida da (2*R*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina com um dos picos cromatográficos da mistura racêmica sintética forneceu o tempo de retenção dos dois isômeros *trans* (tempos de retenção: (2*R*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina = 49,24 min, (2*S*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina = 49,67

min, Figuras 33B e 33C). Procedimento análogo foi aplicado com o derivado trifluoroacetamida dos isômeros *cis* (tempos de retenção: (2*R*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina = 50,63 min, (2*S*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina = 50,96 min, Figuras 33D e 33E). Portanto, os tempos de retenção de todos os quatro estereoisômeros dos derivados trifluoroacetamida da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas foram caracterizados por CG-EM e CG-DIC quiral utilizando a coluna capilar quiral Chrompack.



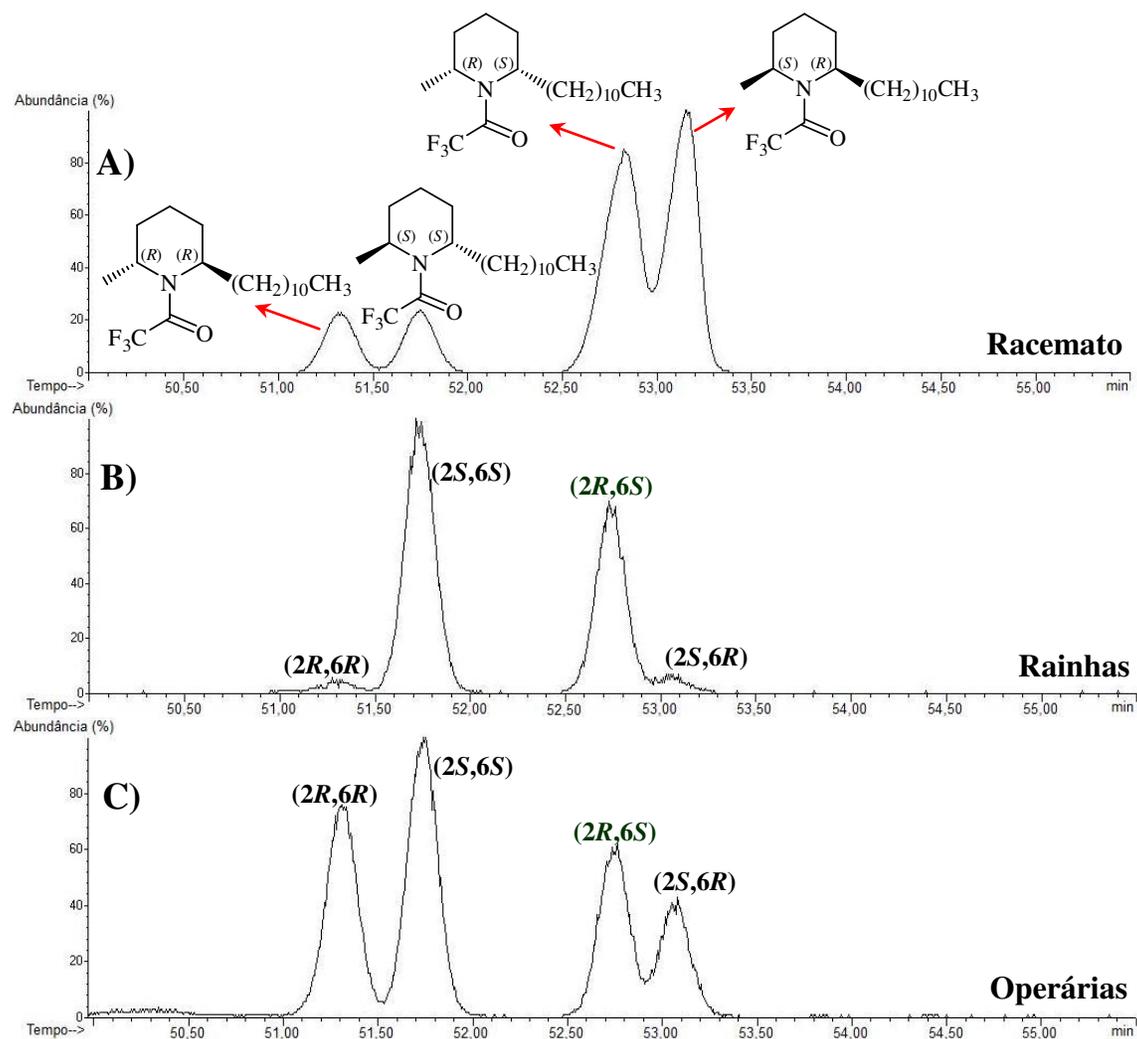
**Figura 33.** Cromatogramas de CG quiral (coluna quiral Chrompack CP-chirasil-Dex CB) para discriminação dos picos dos dois pares de enantiômeros das trifluoroacetamidas da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas: (A) mistura racêmica sintética; (B) padrão (2*R*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina isolado; (C) co-injeção da mistura racêmica com o padrão (2*R*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina; (D) padrão (2*R*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina isolado; e (E) co-injeção da mistura racêmica com o padrão (2*R*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina.

Finalmente, esta metodologia foi aplicada para monitorar as configurações relativas e absolutas das *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas de operárias (com tamanhos diferentes) e rainhas de *S. saevissima*, como apresentado na Tabela 13 abaixo.

**Tabela 13.** Monitoramento das razões diastereoméricas e enantioméricas dos derivados trifluoroacetamidas da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas do veneno das operárias e rainhas de *Solenopsis saevissima* Smith

Entrada <sup>a</sup>	I <sup>b</sup>	rd ( <i>cis:trans</i> ) <sup>c</sup>	re	
			2R,6S:2S,6R ( <i>cis</i> ) <sup>c</sup>	2R,6R:2S,6S ( <i>trans</i> ) <sup>c</sup>
1	O	-	-	-
	R	39:61	90:10	7:93
2	OP	1:99	100:0	100:0
	OM	2:98	100:0	100:0
	OG	5:95	100:0	100:0
	R	87:13	100:0	100:0
3	OP	6:94	100:0	100:0
	OM	9:91	100:0	100:0
	OG	16:84	100:0	100:0
	R	55:45	100:0	100:0
4	OP	9:91	100:0	100:0
	OM	7:93	100:0	100:0
	OG	11:89	100:0	100:0
	R	66:34	100:0	100:0
5	OP	5:95	100:0	100:0
	OM	9:91	100:0	100:0
	OG	17:83	100:0	100:0
	R	53:47	100:0	100:0
6	OP	37:63	59:41	43:57
	R	20:80	99:1	15:85
7	OP	0:100	-	100:0
	R	68:32	100:0	100:0
8	OP	17:83	100:0	100:0
	R	62:37	100:0	100:0

<sup>a</sup>Entradas 1-5 são ninhos coletados em Pedro do Rio-RJ e entradas 6-8 são ninhos de Ubatuba-SP. <sup>b</sup>I= indivíduos analisados. As operárias foram separadas em classes por tamanhos diferentes: OP - operárias pequenas (1-2 mm), OM - operárias médias (3-4 mm) e OG - operárias grandes (5-6 mm). O = todas as operárias, sem distinguir tamanho, e R = rainhas aladas (não acasaladas). <sup>c</sup>Análises por CG com coluna capilar quiral Chrompack CP-chirasil-Dex (Parte Experimental), rd = razão diastereomérica e re = razão enantiomérica. (-): Estes estereoisômeros não foram encontrados nesta amostra.



**Figura 34.** Cromatogramas de íons das trifluoroacetamidas da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas (coluna quiral Chrompack CP-chirasil-Dex CB, no modo de extração de íons:  $m/z$  194): (A) mistura racêmica; (B) alcalóides do veneno das rainhas de *S. saevissima* Smith de Pedro do Rio-RJ; e (C) alcalóides do veneno das operárias pequenas de *S. saevissima* Smith de Ubatuba-SP.

O monitoramento dos quatro estereoisômeros das trifluoroacetamidas das *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas de 24 amostras de veneno *S. saevissima* mostraram que as rainhas de *S. saevissima* possuem uma razão *cis:trans* com predominância do isômero *cis* (Tabela 13, entradas 2-5 e 7-8 - R), exceto para duas amostras de rainhas que exibiram predominância do isômero *trans* (Tabela 13, entradas 1 e 6 - R). Estas análises também

revelaram que a configuração absoluta do isômero *trans* não é sempre (2*R*,6*R*) e do isômero *cis* não é sempre (2*R*,6*S*) (Tabela 13 – entradas 1 e 6), como previamente reportado para os alcalóides piperidínicos de *S. invicta* e *S. geminata* (Leclercq *et al.*, 1994, 1996), pois a configuração absoluta dos isômeros *trans* de duas amostras de rainhas foram predominantemente (2*S*,6*S*) (Tabela 13, entradas 1 e 6 – R; Figura 34B). Além disso, amostras de operárias pequenas e rainhas revelaram a presença dos quatro estereoisômeros da 2-metil-6-undecilpiperidina (Tabela 13, entrada 6 – OP e R; Figure 34C).

## 4.2. Conclusões parciais

O veneno de operárias e rainhas de *S. saevissima* de Pedro do Rio-RJ e Ubatuba-SP apresentaram diferenças na composição dos alcalóides piperidínicos entre as castas e os ninhos coletados, com destaque para o aumento na razão isomérica *cis:trans* dos alcalóides das operárias para as rainhas.

A metodologia de determinação da configuração relativa e absoluta por CG quiral utilizando derivados trifluoracetamida e acetamida dos alcalóides piperidínicos ((±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas, (±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas e (±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas) foi muito útil e eficiente para verificar a razão diastereomérica e enantiomérica em amostras de veneno das formigas lava-pés, permitindo a resolução quiral empregando uma pequena quantidade de amostra (0,5 µg/µl). Isto foi conseguido graças a derivatização dos alcalóides, pois a acetilação e a trifluoracetilação originou mudanças nas interações dos dois pares de enantiômeros dos alcalóides piperidínicos com a coluna quiral resultando na discriminação desejada.

Além disso, a varredura de amostras dos venenos de operárias e rainhas de *S. saevissima* empregando CG quiral revelou que esta espécie de formiga lava-pé pode produzir todos os estereoisômeros da 2-metil-6-undecilpiperidina, pois os dois pares de enantiômeros foi verificado em amostras de venenos de operárias e rainhas, comprovando que a configuração absoluta do isômero *trans* não é sempre (2*R*,6*R*) e do isômero *cis* não é sempre (2*R*,6*S*). Estes trabalhos com formigas lava-pés resultaram na publicação de dois artigos (Fox *et al.*, 2012 e Pianaro *et al.*, 2012).

---

# CONCLUSÕES FINAIS

---



## 5. Conclusões finais e perspectivas futuras

O presente trabalho revelou que as rainhas virgens de *M. quadrifasciata* com abdômes inflados exalam uma mistura de nerol/geraniol na razão 1:2, respectivamente, os quais foram localizados nos extratos das glândulas terçais localizadas no abdome. Possivelmente a função principal desta mistura de monoterpenos está relacionada com a disputa de território pelas rainhas virgens, o que perturba as operárias de *M. quadrifasciata* devido à liberação destes compostos por várias rainhas, ocasionando a perseguição e morte das rainhas virgens pelas operárias. Testes de campo e bioensaios serão realizados com estes monoterpenos para avaliar a influência na seleção das rainhas virgens.

Os testes em laboratório utilizando machos, rainhas virgens *in vitro* e rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* foi determinante para verificar que as rainhas fisogástricas atraíam os machos e através das análises dos extratos epicuticulares foi possível observar que os feromônios sexuais estavam na cutícula das rainhas fisogástricas. Além disso, os extratos cefálicos dos machos e rainhas (virgens e fisogástricas) de *S. aff. depilis* apresentaram composições químicas distintas que auxiliam na sinalização da maturidade das rainhas e discriminação das castas e sexos. Esta metodologia de trabalho pode ser aplicada e melhorada para outras espécies de meliponíneos, auxiliando na identificação dos feromônios sexuais.

Os extratos cefálicos de machos e rainhas virgens de *M. quadrifasciata* e de rainhas virgens de *S. aff. depilis* possuíam 2-alcanóis e a configuração absoluta do 2-heptanol e do 2-nonanol foi verificada ser (S) por CG-DIC. Em teste de campo, o (S)-(+)-2-heptanol e a mistura (S)-(+)-2-heptanol/(S)-(+)-2-

nonanol (1:1) comerciais atraíram operárias de *P. droryana*, *N. testaceicornis* e *F. silvestrii*, sugerindo ser um feromônio de recrutamento de operárias.

Os testes de campo com os extratos das rainhas de *S. aff. depilis*, os padrões e as frações revelaram que o extrato epicuticular das rainhas fisogástricas é atrativo e estimula a cópula dos machos quando testado a curta distância com feltro preto. Além disso, verificou que os machos necessitam de um estímulo visual para realizar a cópula.

O veneno de operárias e rainhas de *S. saevissima* de duas regiões do Brasil (Pedro do Rio-RJ e Ubatuba-SP) apresentaram diferenças na composição dos alcalóides piperidínicos inter e intra-nidal, com destaque para o aumento na razão isomérica *cis:trans* dos alcalóides nas rainhas.

Uma metodologia de rápido acesso a configuração absoluta dos alcalóides piperidínicos de formigas *Solenopsis* foi desenvolvida empregando CG-DIC e CG-EM com coluna capilar quiral e alcalóides trifluoracetilados e acetilados. A monitoria e a varredura de várias amostras de veneno de operárias e rainhas de *S. saevissima* com esta metodologia possibilitou a identificação de amostras com os quatro estereoisômeros da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidina. Portanto, este método por CG quiral pode ser aplicado futuramente como uma ferramenta de análise para a determinação da configuração absoluta das 2-metil-6-alkilpiperidinas de diferentes espécies do gênero *Solenopsis* de várias regiões do mundo.

---

# **PARTE EXPERIMENTAL**

---



## 8. Parte experimental

### 8.1. Equipamentos e métodos

❖ **Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM):** As análises de CG-EM foram realizadas no cromatógrafo a gás Agilent/HP 6890 acoplado a um detector seletivo de massas Hewlett Packard 5973 e com um amostrador líquido automático Agilent 7683B Series para 8 frascos. O CG-EM operava com uma coluna capilar MDN-5S (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ) marca Supelco ou uma coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ) marca J&W. Os espectros de massas foram obtidos em 70 eV com velocidade 2,89 varreduras/s no intervalo de  $m/z$  40 a 550. As análises foram realizadas com injetor operando a 250°C e interface a 280°C. Hélio de alta pureza foi utilizado como gás de arraste, com fluxo de 1 mL/min, e com modo de injeção *splitless* (sem divisão de fluxo) para todas as amostras das abelhas sem ferrão (*M. quadrifasciata* e *S. aff. depilis*) e os alcenos derivatizados com dissulfeto de dimetila (DMDS); e com modo de injeção *split* (com divisão de fluxo) de razão 10:1 para os alcalóides piperidínicos do veneno de *S. saevissima* e razão 30:1 para os alcalóides sintetizados, sendo analisadas 1  $\mu\text{L}$  de cada amostra. Os seguintes programas de temperatura do forno foram utilizados:

- a) Extratos das abelhas sem ferrão *M. quadrifasciata* e *S. aff. depilis*: Forno com temperatura inicial de 50°C com incremento de temperatura de 12°C/min até 290°C e 20 minutos isotermicamente a 290°C.
- b) Amostras de *headspace* dinâmico das rainhas virgens de *M. quadrifasciata*: Forno com temperatura inicial de 50°C com incremento de temperatura de 3°C/min até 290°C e 5 minutos isotermicamente a 290°C.

- c) Extratos cefálicos das abelhas sem ferrão *S. aff. depilis* e *M. quadrifasciata*: Forno com temperatura inicial de 40°C com incremento de temperatura de 12°C/min até 290°C e 20 minutos isotermicamente a 290°C.
- d) Alcenos das abelhas sem ferrão derivatizados com dissulfeto de dimetila (DMDS): Forno com temperatura inicial de 50°C com incremento de temperatura de 12°C/min até 290°C e 50 minutos isotermicamente a 290°C.
- e) Frações do extrato epicuticular de rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis*: Forno com temperatura inicial de 50°C com incremento de temperatura de 25°C/min até 290°C e 10 minutos isotermicamente a 290°C.
- f) Alcalóides piperidínicos do veneno de *S. saevissima* e alcalóides sintetizados e derivatizados: Forno com temperatura inicial de 50°C com incremento de temperatura de 25°C/min até 290°C e 10 minutos isotermicamente a 290°C.

❖ **Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização em Chama (CG-DIC)**: As análises por CG-DIC foram realizadas no cromatógrafo a gás Agilent Technologies 6850, com um amostrador líquido automático Agilent 6850 Series para 27 frascos e equipado com uma das colunas capilares quirais: Chrompack CP-Chirasil-Dex CB (25 m x 0,25mm x 0,25  $\mu$ m), Lipodex-E octaquis {3-*O*-butiril-2,6-di-*O*-pentil}- $\gamma$ -ciclodextrina [(28 m x 0,25mm x 0,25  $\mu$ m), preparada pelo Prof. Dr. Ademir F. Morel – UFSM – Santa Maria-RS], ou heptakis-(2,6-di-*O*-metil-3-*O*-pentil)- $\beta$ -ciclodextrina (25 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). Hidrogênio altamente puro foi empregado como gás de arraste. As análises foram realizadas com o injetor e o detector operando a 180°C e a 250°C, respectivamente. Os seguintes programas de temperatura do forno e preparação de amostras foram empregados:

**a) Coluna capilar quiral Chrompack (2-alcanóis):** O (*S*)-(+)-2-nonanol (100  $\mu\text{g/mL}$ ), o ( $\pm$ )-2-nonanol (100  $\mu\text{g/mL}$ ), o ( $\pm$ )-2-undecanol (100  $\mu\text{g/mL}$ ) e a mistura (2:1) do ( $\pm$ )-2-nonanol (100  $\mu\text{g/mL}$ )/ (*S*)-2-nonanol (50  $\mu\text{g/mL}$ ) comerciais foram dissolvidos em acetato de etila bidestilado e o volume de 1  $\mu\text{L}$  foi injetado no CG-DIC, no modo de injeção *split* de razão 50:1. O fluxo do gás foi mantido constante em 0,8 mL/min e a temperatura do forno foi programada de 50°C com incremento de temperatura de 0,4°C/min até 135°C.

Os extratos cefálicos e abdominais dos machos de *P. droryana* e os extratos cefálicos de rainhas virgens de *S. aff. depilis* foram dissolvidos em 20  $\mu\text{L}$  de acetato de etila bidestilado. A mistura dos extratos com o ( $\pm$ )-2-alcanol comercial (soluções em acetato de etila de ( $\pm$ )-2-nonanol e ( $\pm$ )-2-undecanol de 25  $\mu\text{g/mL}$ ), na razão 4:1, respectivamente. Os extratos e as misturas foram injetados no CG-DIC (volume de 1  $\mu\text{L}$ ), no modo de injeção *splitless*. O fluxo do gás foi mantido constante em 0,8 mL/min e a temperatura do forno foi programada de 50°C com incremento de 0,4°C/min até 100°C e de 100°C a 180°C com incremento de 30°C/min, com um aquecimento final de 20 min a 180°C.

**b) Coluna capilar quiral Chrompack (alcalóides derivatizados):** Os alcalóides trifluoroacetilados e acetilados foram dissolvidos em acetato de etila bidestilado (0,5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) e um volume de 1  $\mu\text{L}$  de cada amostra foi injetado no modo de injeção *splitless* no CG-DIC com a coluna capilar quiral Chrompack. O fluxo do gás de arraste foi mantido constante em 2,0 mL/min e o programa da temperatura do forno usado para as trifluoroacetamidas foi de 120°C com incremento de temperatura de 0,8°C/min até 180°C e 100 min isotermicamente a 180°C (sem este tempo de aquecimento final para as

trifluoroacetamidas da 2-metil-6-undecilpiperidina) e para as acetamidas foi de 10 min isotermicamente a 170°C e de 170-180°C a 1,0°C/min com 100 min isotermicamente a 180°C (sem este tempo de aquecimento final para as acetamidas da 2-metil-6-undecilpiperidina e 2-metil-6-tridecilpiperidina). \*Esta mesma metodologia foi utilizada em análises dos alcalóides trifluoroacetilados e acetilados por CG-EM utilizando a coluna quiral Chrompack. Vários métodos foram testados por CG com as colunas Lipodex-E e heptakis ciclodextrina, mas nenhum resultado satisfatório foi obtido com estas colunas capilares quirais para a discriminação das trifluoroacetamidas e acetamidas dos alcalóides piperidínicos.

**c) Coluna capilar quiral Lipodex-E (2-alcanóis):** O (*S*)-(+)-2-heptanol (50 µg/mL), o (±)-2-heptanol (50 µg/mL) e a mistura (2:1) do (±)-2-heptanol (50 µg/mL)/ (*S*)-2-heptanol (25 µg/mL) comerciais foram dissolvidos em acetato de etila bidestilado e o volume de 1 µL foi injetado no modo de injeção *split* na razão 10:1. O fluxo do gás foi mantido constante em 3,5 mL/min e a temperatura do forno permaneceu isotermicamente por 30 min a 40°C.

Os extratos cefálicos de operárias, machos e rainhas virgens (com 1 dia após emergência e com 2-3 dias após emergência) de *M. quadrifasciata* e os extratos cefálicos de rainhas virgens de *S. aff. depilis* foram dissolvidos em 20 µL de acetato de etila bidestilado e a mistura dos extratos com o (±)-2-heptanol (25 µg/mL), na razão de 4:1, respectivamente, foram injetados no CG-DIC (volume de 1 µL), ambos no modo de injeção *splitless*. O fluxo do gás foi mantido constante em 3,5 mL/min e a temperatura do forno permaneceu isotermicamente 30 min a 40°C e, na sequência, com incremento

de temperatura de 30°C/min até 180°C, com um aquecimento final de 30 min a 180°C.

❖ **Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ):** Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foram obtidos em equipamento Varian Inova 500 (499,88 MHz), Bruker Avance 500 (499,87 MHz), Bruker AvanceIII Oxford 400 (400,13 MHz) e Bruker Avance DPX 250 (250,13 MHz), equipados com sondas de 5 mm. Os valores de deslocamentos químicos foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz). O clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ , 7,23 ppm) e o tetrametilsilano (TMS, 0,0 ppm) foram utilizados como solventes e referências internas. As análises foram realizadas em temperatura ambiente. A multiplicidade foi indicada conforme a convenção: s, singlete; d, dublete; t, tripleto; quin, quinteto; m, multiplete; dd, duplo dublete.

❖ **Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN de  $^{13}\text{C}$ ):** Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  foram obtidos em equipamento Varian Inova 500 (125,71 MHz), Bruker Avance 500 (125,69 MHz), Bruker AvanceIII Oxford 400 (100,61 MHz) e Bruker Avance DPX 250 (62,89 MHz), equipados com sondas de 5 mm ou nanosondas de 50  $\mu\text{L}$ . O clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ , 77,0 ppm) e o tetrametilsilano (TMS, 0,0 ppm) foram utilizados como solventes e referências internas. Os valores de deslocamentos químicos foram expressos em ppm. Como dados auxiliares foram obtidos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  de DEPT-135 e DEPT-90 (“Distortionless Enhanced by Polarization Transfer”). Os espectros de DEPT-135 apresentam carbonos de metila ( $\text{CH}_3$ ) e de metino (CH) como sinais positivos, enquanto os carbonos metilenos ( $\text{CH}_2$ ) aparecem como sinais negativos. Os carbonos quaternários não aparecem

neste espectro (intensidade zero). Os espectros de DEPT-90 apresentam apenas sinais positivos dos carbonos CH.

❖ **Espectros no Infravermelho (IV):** Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro Nicolet 380 FT-IR, marca Thermo Scientific, com transformada de Fourier. A amostra foi colocada no acessório Smart Performer-ATR, o qual possui uma superfície de amostragem feita de germânio onde a amostra é pressionada formando um filme, sem necessidade de nenhuma preparação anterior da amostra. As absorções foram expressas em número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ).

❖ **Polarimetria:** A análise de rotação óptica específica foi realizada no Polarímetro Perkin Elmer modelo 341, no modo SROT, empregando uma lâmpada de Na/HaI no comprimento de onda de 589 nm, com temperatura a 20 °C.

❖ **Hidrogenação:** A hidrogenação dos compostos foi realizada em um aparelho de hidrogenação marca Parr, série 3926, tipo shaker.

❖ **Outros Equipamentos:** Vidraria em geral, balança analítica Sartorius BL1205, estufa de secagem, evaporador rotativo marca Büchi B-480, bomba de vácuo (air sampling pump LaMotte, model BD Pump), microscópio binocular Quimis Q106Z2, geladeira e freezer marca Electrolux.

## 8.2. Solventes, reagentes, padrões e materiais

❖ **Solventes e reagentes:** Os solventes (Synth) utilizados foram destilados ou bidestilados antes do uso, baseada na metodologia de Perin *et al.* (1980). Todos os reagentes foram comprados comercialmente. A piridina, o diclorometano e a 2,6-lutidina foram tratados com hidreto de cálcio, sendo destiladas antes do uso. O éter etílico foi tratado com cloreto de cálcio e hidreto de cálcio, sendo destilado antes do uso. O tetrahydrofurano (THF) foi tratado com sódio e benzofenona, sendo destilado antes do uso. O cloreto de acetila foi tratado com pentóxido de fósforo e quinolina, sendo destilado antes do uso de acordo com Perin *et al.* (1980). Os demais reagentes, padrões e solventes deuterados foram utilizados sem tratamento prévio.

❖ **Padrões de cetonas:** A 2-heptanona e a 2-undecanona foram obtidas pela oxidação do ( $\pm$ )-2-heptanol e do ( $\pm$ )-2-undecanol com clorocromato de piridínio (PCC) em diclorometano anidro, em temperatura ambiente (Piancatelli *et al.*, 1982).

❖ **Padrões de ésteres:** Os padrões utilizados para confirmar as estruturas dos ésteres encontrados nos extratos das abelhas sem ferrão *M. quadrifasciata* e *S. aff. depilis* foram sintetizados pelo método de esterificação de Fischer (hexadecanoato de etila, octadecanoato de etila, octanoato de decila e octanoato de dodecila), método de esterificação de Steglich (hexanoato de hexila, butirato de decila, butirato de dodecila, butirato de tetradecila, butirato de hexadecila, isobutirato de decila, isobutirato de dodecila, isobutirato de tetradecila, isobutirato de hexadecila e *cis*-9-octadecenoato de hexadecila), acetilação de álcoois com anidrido acético e piridina (acetato de tetradecila,

acetato de hexadecila e acetato de octadecila) e derivatização de ácidos carboxílicos com diazometano (hexadecanoato de metila, octadecenoato de metila e octadecanoato de metila) (Allinger *et al.*, 1978; Brewster e Ciotti, 1955; Monte *et al.*, 2001; Neises e Steglich, 1978; Newmam, 1941; Vogel, 1989) pelo aluno de iniciação científica Raphael Pedro Ricci (IQ-Unicamp, Campinas/SP) sob orientação da Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli.

❖ **Algodão tratado:** O algodão foi colocado em um sistema de Soxlet e lavado com solventes destilados a quente, em ordem decrescente de polaridade (metanol, acetato de etila e hexano) para a retirada dos contaminantes do algodão. Após a limpeza, o algodão foi seco e guardado em um recipiente com tampa.

❖ **Tubos de vidro com Porapak Q:** Para a coleta de compostos voláteis foram obtidos tubos de vidro (10 cm de comprimento e 0,6 cm de diâmetro interno) preenchidos com 100 mg do adsorvente Porapak Q (Waters Associates, 80-100 mesh), o qual ficava no centro do tubo devido as duas extremidades serem fechadas com pedaços de lã de vidro. Estes tubos foram lavados com 10 mL dos seguintes solventes, em ordem decrescente de polaridade: metanol, acetato de etila e hexano (todos bidestilados). Em seguida, os tubos de vidro com Porapak Q foram secos e ativados em alta pressão com aquecimento a 150°C por 12 horas.

❖ **CCD – Cromatografia em Camada Delgada:** As análises em CCD foram feitas em placas de sílica gel 60 F<sub>254</sub> suportadas sobre folhas de alumínio (Merck), sendo colocadas em cuba de vidro com o solvente ou mistura de solventes adequada para a separação dos compostos das frações. Como

reveladores foram empregados a técnica física de exposição à luz ultravioleta (254 nm) ou revelação química através de aspersão ou mergulho das placas em solução de *p*-anisaldeído 5%, seguida de aquecimento até aparecimento de manchas coloridas. No caso dos alcalóides foi usada revelação química através da aspersão ou mergulho das placas em solução do reagente de Dragendorff.

❖ **Solução de *p*-anisaldeído 5%:** Num béquer de 200 mL foram dissolvidos 5 mL de *p*-anisaldeído em 90 mL de etanol destilado e, em seguida, foi adicionado 1 mL de ácido acético glacial. A mistura reacional foi colocada em banho de gelo e, cuidadosamente aos poucos e com agitação, foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico concentrado (Touchstone e Dobbins, 1978). Como a reação é exotérmica, é preciso esperar alguns minutos a solução esfriar para ser usada na revelação das placas de CCD.

❖ **Reagente de Dragendorff:** O reagente de Dragendorff é um revelador químico muito usado para identificação de alcalóides e compostos nitrogenados em placas de CCD. A solução estoque deste reagente é preparada pela mistura de partes iguais das soluções A e B (descritas a seguir), a qual pode ser guardada na geladeira por alguns meses. A solução spray é obtida pela mistura de 10 ml da solução estoque com 10 g de ácido tartárico em 50 ml de água destilada. Solução A: dissolve-se 0,85 g de nitrato de bismuto (III) e 10 g de ácido tartárico em 40 ml de água destilada. Solução B: dissolve-se 16 g de iodeto de potássio em 40 ml de água destilada (Touchstone e Dobbins, 1978). Para as revelações das placas de CCD, as soluções A e B foram misturadas, na proporção 1:1, e a solução final foi guardada em frasco âmbar na geladeira.

### 8.3. Índices de retenção

Os índices de retenção dos compostos foram obtidos pela análise por CG-EM da co-injeção das amostras com a mistura de *n*-alcanos padrão (Pianaro *et al.*, 2007). Os valores foram calculados pela Equação 1 abaixo (Van den Dool e Kratz, 1963) e comparados com dados da literatura (Adams, 1995). Os índices de retenção dos *n*-alcanos padrões foram considerados como números inteiros, de acordo com Adams (1995).

$$IR = 100z + 100 \left[ \frac{t_{R(X)} - t_{R(Z)}}{t_{R(Z+1)} - t_{R(Z)}} \right] \quad (1)$$

Onde:

**z** - número de átomos de carbono do *n*-alcano que elui antes da substância analisada (X);

**t<sub>R(X)</sub>** - tempo de retenção da substância analisada;

**t<sub>R(Z)</sub>** - tempo de retenção do *n*-alcano que elui antes da substância analisada;

**t<sub>R(Z+1)</sub>** - tempo de retenção do *n*-alcano que elui depois da substância analisada.

### 8.4. Determinação da posição da dupla ligação

Os extratos das abelhas sem ferrão foram solubilizados em 2 mL de hexano ou acetato de etila bidestilado e tratados com 200  $\mu$ L de DMDS e 100  $\mu$ L de uma solução de iodo (32 mg de I<sub>2</sub> em 2 mL de éter etílico destilado). As misturas reacionais foram colocadas em agitação magnética durante a noite com temperatura de 50 °C. As reações foram interrompidas com 2 mL da

solução aquosa de tiosulfato de sódio (1g de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> em 10 mL de água destilada). A fase orgânica foi extraída, seca com sulfato de magnésio anidro e evaporada em atmosfera de nitrogênio (Buser *et al.*, 1983; Carlson *et al.*, 1989; Vincenti *et al.*, 1987). Os extratos derivatizados foram solubilizados em 1 mL de hexano bidestilado e 1 µL foi analisado por CG-EM.

## **8.5. Abelhas sem ferrão**

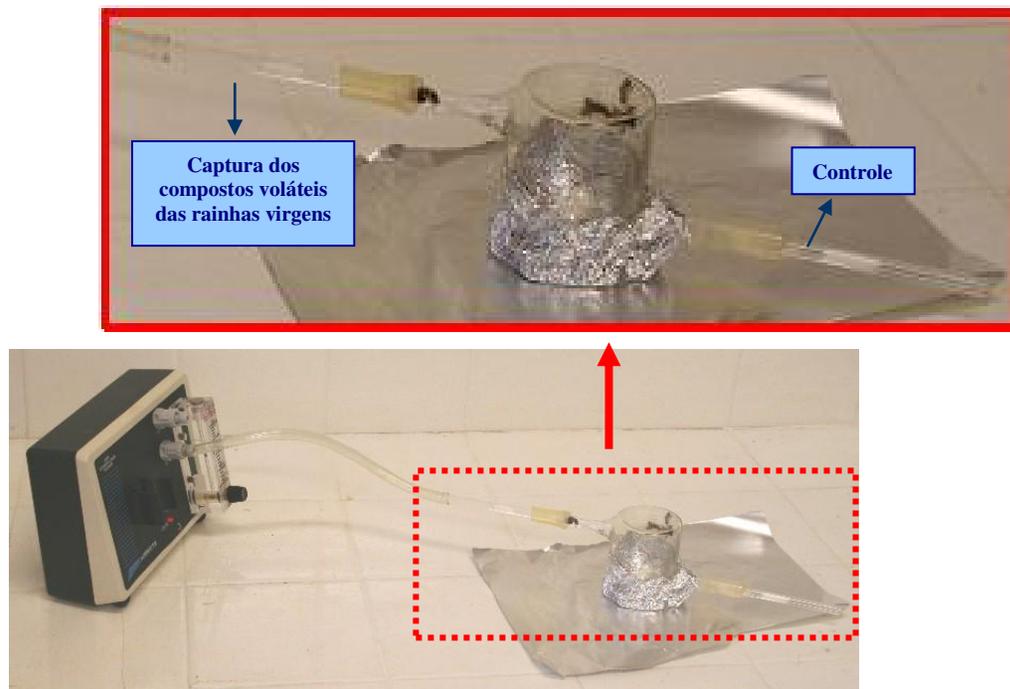
Todos os indivíduos (operárias, machos e rainhas) das abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* e *Scaptotrigona* aff. *depilis* foram coletados em ninhos determinados previamente para serem pesquisados no Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP – Ribeirão Preto-SP.

### **8.5.1. Abelha sem ferrão *Melipona quadrifasciata***

Dois grupos de rainhas virgens de *M. quadrifasciata* foram separados: o primeiro, formado por rainhas virgens com 1 dia após emergência do favo de cria (rainhas que não inflam o abdome), e um segundo grupo, composto por rainhas virgens com 2 a 3 dias após emergência (já inflam o abdome ao serem expostas a outra rainha virgem).

#### **8.5.1.1. *Headspace* dinâmico das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata***

As rainhas virgens de *M. quadrifasciata* foram aprisionadas em campânulas de vidro ( $N= 6$ )<sup>18</sup>, os dois grupos separadamente, e os compostos voláteis liberados pelas rainhas virgens foram capturados através da técnica “*headspace*” dinâmico empregando dois tubos de vidro com Porapak Q (Parte Experimental, seção 8.2) e uma bomba de vácuo, como mostrado na montagem indicada na Figura 35, os dois experimentos foram realizados em duplicata. Um destes tubos foi conectado a bomba de vácuo (tubo de vidro com Porapak Q com a amostra) e o outro foi exposto ao ar ambiente (tubo de vidro com Porapak Q controle). As extremidades dos dois tubos de vidro com Porapak Q que estavam conectados a campânula de vidro foram isoladas com um pedaço de algodão tratado para evitar a entrada das abelhas.



**Figura 35.** Coleta dos compostos voláteis das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier utilizando a técnica “*headspace*” dinâmico com emprego de uma bomba de vácuo. Fotos: Adriana Pianaro.

<sup>18</sup> *N* é o número de indivíduos.

Após um período de sucção de 30 minutos (vazão: 1 L/min), os compostos voláteis das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* foram extraídos do Porapak Q com 2 mL de acetato de etila bidestilado e 2 mL de hexano bidestilado. Os extratos obtidos foram concentrados a um volume de 100  $\mu$ L em atmosfera de nitrogênio e analisados por CG-EM. O mesmo procedimento foi realizado com os tubos de vidro com Porapak Q que foram expostos ao ar ambiente (controle).

#### **8.5.1.2. Extratos dos hidrocarbonetos cuticulares, cefálicos, abdominais, das glândulas terçais e da glândula de Dufour das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata***

As rainhas virgens com abdômes inflados foram mortas no freezer (-18°C), e os seguintes extratos individuais ( $N = 1$ ; em triplicata) foram obtidos:

**a) Hidrocarbonetos cuticulares:** cada indivíduo foi mergulhado em 2 mL de hexano bidestilado permanecendo no solvente por 5 minutos e em seguida o extrato foi filtrado em funil de vidro com algodão tratado.

**b) Extratos abdominais:** após as rainhas virgens serem lavadas com hexano bidestilado, elas tiveram seus abdômes separados e macerados em 2 mL de acetato de etila bidestilado. O extrato foi filtrado em funil de vidro com algodão tratado.

**c) Extratos cefálicos:** o mesmo procedimento dos extratos abdominais, só que para as cabeças.

**d) Glândulas terçais:** após a dessecação do abdome das rainhas virgens,<sup>19</sup> as glândulas terçais de cada rainha foram mantidas em vidro com banho de gelo e maceradas em 2 mL de acetato de etila bidestilado.

**e) Glândula de Dufour:** após a dessecação do abdome das rainhas virgens,<sup>19</sup> a glândula de Dufour de cada rainha foi mantida dentro de vidro em banho de gelo e macerada em 10  $\mu$ L de acetato de etila bidestilado.

Para evitar a perda de compostos voláteis, o volume de solvente de cada extrato foi reduzido em atmosfera de nitrogênio até alcançar aproximadamente 50  $\mu$ L, depois acrescentou 20  $\mu$ L de padrão interno em todos (solução hexânica de undecano 0,02  $\mu$ g/ $\mu$ L). Os extratos da glândula de Dufour não foram concentrados, mas adicionou-se 5  $\mu$ L de padrão interno. O volume de 1  $\mu$ L de cada extrato foi analisado por CG-EM.

### 8.5.1.3. Quantificação relativa da mistura nerol/geraniol das rainhas virgens de *Melipona quadrifasciata*

A determinação da concentração relativa da mistura nerol/geraniol nas amostras das rainhas virgens de *M. quadrifasciata* só é possível pela determinação do fator de resposta destes compostos no detector, neste caso no espectrômetro de massas.

O fator de resposta é definido como a razão das áreas pela razão das massas dos dois constituintes, calculado pela Fórmula de Dietz:  $FR_c = (A_c/A_p) / (m_c/m_p)$ ; onde o  $FR_c$  é o fator de resposta do composto;  $A_c$  e  $A_p$  são

---

<sup>19</sup> As glândulas terçais e a glândula de Dufour foram desseccadas pelo Dr. Cristiano Menezes (USP-Ribeirão Preto/SP).

as áreas do composto (c) e do padrão interno (p), respectivamente; e  $m_c$  e  $m_p$  são as massas correspondentes (Raffa e Steffek, 1988).

O pentadecano foi utilizado como padrão interno (0,02  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  em acetato de etila bidestilado) porque ele não ocorre em níveis detectáveis nas amostras dos extratos dos abdômes e do *headspace* das rainhas virgens de *M. quadrifasciata*. O pentadecano é muito usado como padrão interno de amostras de abelhas sem ferrão.

A mistura nerol/geraniol na razão 1:2, respectivamente, foi solubilizada em acetato de etila bidestilado em uma série de concentrações (0,25; 0,33; 0,50; 1,0  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ), conseqüentemente a massa dos terpenos em concentração é conhecida. A solução total de 1,4  $\mu\text{L}$  da mistura de 1,2  $\mu\text{L}$  de cada concentração dos terpenos com 0,2  $\mu\text{L}$  da solução do padrão interno foi injetada no CG-EM, todas as análises foram feitas em sequência. Todas as amostras das rainhas de *M. quadrifasciata* estavam solubilizadas em 50  $\mu\text{L}$  de acetato de etila bidestilado. Com a obtenção das áreas dos picos foi possível calcular o fator de resposta para cada concentração e obter uma média final do fator de resposta pela curva de calibração, possibilitando obter um valor médio aproximado dos terpenos em cada amostra das rainhas virgens de *M. quadrifasciata*.

### **8.5.2. Extratos epicuticulares, cefálicos, das secreções anais, das glândulas terçais e da glândula de Dufour da abelha sem ferrão *Scaptotrigona aff. depilis***

Os machos e rainhas [fisogástricas, virgens *in vitro* e virgens atrativas RVIVA] de *S. aff. depilis* do teste de atratividade foram separados e mortos no

freezer (-18°C). Os seguintes extratos individuais ( $N = 1$ ; amostra em triplicata para cada casta) foram obtidos:

**a) Extratos epicuticulares:** os machos e as rainhas foram individualmente mergulhados em 2 mL de acetato de etila bidestilado por 5 min e o extrato foi filtrado em funil de vidro com algodão tratado.

**b) Extratos cefálicos, das glândulas terçais e da glândula de Dufour:** mesmo procedimento realizado para as rainhas virgens de *M. quadrifasciata* (Parte Experimental, seção 8.5.1.2). Somente os extratos cefálicos foram obtidos para os machos.

**c) Extrato das secreções anais** (somente para as rainhas fisogástricas): As rainhas fisogástricas foram colocadas sobre algodão tratado em placas de *Petri* por 1 h. Durante este tempo, elas eliminaram uma boa quantidade de secreções anais. Depois, o algodão foi extraído em funil de vidro com 5 mL da mistura acetato de etila/metanol (1:1) bidestilados.

Para evitar a perda de compostos voláteis, o volume de solvente de cada extrato epicuticular e cefálico foi reduzido em atmosfera de nitrogênio até alcançar o volume de aproximadamente 50  $\mu\text{L}$  e cada extrato das glândulas terçais e secreções anais foi reduzido para aproximadamente 100  $\mu\text{L}$ , depois acrescentou 20  $\mu\text{L}$  de padrão interno em todos (solução hexânica de undecano 0,02  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ). Os extratos da glândula de Dufour não foram concentrados, mas adicionou-se 10  $\mu\text{L}$  de padrão interno. O volume de 1  $\mu\text{L}$  de cada extrato foi analisado por CG-EM.

#### **8.5.2.1. Separação das classes de compostos do extrato epicuticular de rainhas fisogástricas de *Scaptotrigona aff. depilis***

O extrato epicuticular de rainhas fisogástricas de *S. aff. depilis* ( $N= 20$ ; 10 mg) foi cromatografado em uma pipeta Pasteur com sílica gel impregnada com nitrato de prata (20%; 8 g) e eluída com hexano, hexano/ éter etílico (95:5), hexano/ éter etílico (90:10), hexano/ éter etílico (85:15) e éter etílico. As frações (2 mL) foram evaporadas em fluxo de nitrogênio até 200  $\mu\text{L}$  e monitoradas individualmente por CG-EM (Krokos *et al.*, 2001). As frações que continham a mesma composição foram reunidas, originando frações com: mistura de *n*-alcanos e metil alcanos (2,6 mg; C22, C23, 11-Me-C23, 5-Me-C23, 3-Me-C23, C25, C27, C29 e C31), *n*-alcenos (1,1 mg; C21:1, C23:1, C25:1, C26:1, C27:1, C29:1 e C31:1), uma mistura de *n*-alcenos e ésters (1,6 mg; C21:1, C23:1, C25:1, C26:1, C27:1, C29:1, C31:1, hexanoato de hexila, butirato de decila, butirato de dodecila, acetato de tetradecila, octanoato de decila, butirato de tetradecila, octanoato de dodecila, acetato de 5-tetradecenila, acetato de tetradecenila (outro isômero), acetato de 7-hexadecenila e acetato de 9-hexadecenila) e acetatos insaturados (1,9 mg; acetato de 5-tetradecenila, acetato de tetradecenila (outro isômero), acetato de 7-hexadecenila e acetato de 9-hexadecenila) que foram utilizadas nos testes de campo.

#### **8.5.2.2. Testes de campo preliminares com as abelhas sem ferrão**

Todos os testes foram realizados no campo experimental do Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP – Ribeirão Preto-SP. Os experimentos são relatados a seguir:

**a) Teste de campo a longa distância com 2-alcanóis:** os álcoois secundários comerciais [(*S*)-(+)-2-heptanol, (*S*)-(+)-2-nonanol, uma mistura de (*S*)-(+)-2-

heptanol e (S)-(+)-2-nonanol (na razão 1:1), (±)-2-heptanol, (±)-2-nonanol e (±)-2-undecanol] foram testados em um campo aberto ao redor de vários ninhos de abelhas sem ferrão, em dezembro de 2008 e novamente em janeiro de 2009. Tiras de papel de filtro contendo 2  $\mu\text{L}$  (1,65 mg) de cada 2-(S)-alcanol foram depositadas a 1,5 m de uma prateleira contendo colônias de *P. droryana*, *N. testaceicornis*, *S. aff. depilis*, *F. varia*, *F. silvestrii*, *Tetragonisca angustula* e *Friesella schrottkyi*, sendo o experimento repetido três vezes e as tiras observadas durante 10 min. Durante o período de observação, as espécimes ao redor das tiras de papel eram coletadas, contadas e identificadas (Pianaro *et al.*, 2009).

**b) Testes de campo com aglomerado de machos de *Scaptotrigona aff. depilis*:** os testes de campo foram realizados a curta e longa distância aplicando extratos (epicuticulares, cefálicos, secreções anais, glândulas terciais e glândula de Dufour), padrões sintéticos e comerciais e frações em algodão, fitas de papel de filtro e feltro preto, de acordo com a Tabela 14 abaixo. Nos testes a curta distância, os papéis de filtro, os algodões e os pedaços de feltro preto com os extratos ou os compostos foram presos com fita crepe em um fio de aço (aproximadamente de 1 m) e, individualmente, aproximados lentamente de uma aglomeração de machos de *S. aff. depilis* perto da entrada de um ninho, sendo observados por 2 min. Nos testes a longa distância, os papéis de filtro foram colocados num varal de barbante com fita crepe, o qual foi colocado a diferentes distâncias (variando entre 2 e 20 m) de uma aglomeração de machos de *S. aff. depilis*, e observados por 2 min. Estes testes foram realizados no período de março e outubro de 2012.

**Tabela 14.** Extratos de rainhas fisogástricas e virgens de *Scaptotrigona* aff. *depilis*, compostos naturais isolados e padrões sintéticos e comerciais aplicados nos testes de campo

Extratos e Compostos	Siglas	Solução em Acetato de Etila	Quantidade Testada <sup>†</sup>
<b>Extratos</b>			
Acetato de etila bidestilado	C	-	20 $\mu$ L
Extrato da glândula tergal de uma rainha fisogástrica	GTRF2	500 $\mu$ L <sup>o</sup>	40 $\mu$ L
Extrato da glândula de Dufour de uma rainha fisogástrica	GDRF2	100 $\mu$ L <sup>o</sup>	40 $\mu$ L
Extrato epicuticular de uma rainha RVIVA	BRVCRF3	500 $\mu$ L <sup>o</sup>	40 $\mu$ L
Extrato cefálico de uma rainha virgem <i>in vitro</i>	CRV2	500 $\mu$ L <sup>o</sup>	40 $\mu$ L
Extratos cefálicos de três rainhas fisogástricas	CRF2a4	2 mg/mL	20 $\mu$ L
Extratos da secreção anal de 20 rainhas fisogástricas	SARF	2 mg/mL	10 $\mu$ L
Extratos epicuticulares de 20 rainhas fisogástricas	RFST1A20	2 mg/mL	10 $\mu$ L
<b>Frações dos compostos naturais isolados</b>			
Fração com <i>n</i> -alcanos + metil alcanos*	F1	1 $\mu$ g/ $\mu$ L	20 $\mu$ L
Fração com <i>n</i> -alcanos*	F2	1 $\mu$ g/ $\mu$ L	20 $\mu$ L
Fração com <i>n</i> -alcanos + ésteres*	F3	1 $\mu$ g/ $\mu$ L	20 $\mu$ L
Fração com acetatos insaturados*	F4	1 $\mu$ g/ $\mu$ L	20 $\mu$ L
Mistura de todas as frações*	MN	40 $\mu$ L de cada fração	80 $\mu$ L
<b>Compostos sintéticos e comerciais</b>			
2-Heptanona <sup>2</sup>	2H	-	2 $\mu$ L
2-Nonanona <sup>2</sup>	2N	-	2 $\mu$ L
2-Undecanona <sup>2</sup>	2UD	-	2 $\mu$ L
2-Nonadecanona <sup>2</sup>	2ND	2 mg/mL	10 $\mu$ L
( <i>S</i> )-2-heptanol <sup>1</sup>	S2HOL	-	2 $\mu$ L
( <i>S</i> )-2-nonanol <sup>1</sup>	S2HOL	-	2 $\mu$ L
Hexanoato de hexila <sup>2</sup>	HH	-	2 $\mu$ L
Butirato de decila <sup>2</sup>	BD	-	2 $\mu$ L
Butirato de dodecila <sup>2</sup>	BDD	-	2 $\mu$ L
Butirato de tetradecila <sup>2</sup>	BT	-	2 $\mu$ L
Butirato de hexadecila <sup>2</sup>	BH	-	2 $\mu$ L
Octanoato de decila <sup>2</sup>	OD	-	2 $\mu$ L
Octanoato de dodecila <sup>2</sup>	ODD	-	2 $\mu$ L
Acetato de tetradecila <sup>2</sup>	AT	-	2 $\mu$ L
Acetato de hexadecila <sup>2</sup>	AH	-	2 $\mu$ L
Ácido gerânico <sup>1</sup>	AG	1 mg/mL	2 $\mu$ L
Benzaldeído <sup>1</sup>	B	1 mg/mL	60 $\mu$ L
<i>p</i> -Hidroxibenzaldeído <sup>1</sup>	PHB	1 mg/mL	60 $\mu$ L
2,4-Dihidroxibenzaldeído <sup>1</sup>	DHB	1 mg/mL	60 $\mu$ L
Acetato de ( <i>Z</i> )-9-tetradecenila <sup>1</sup>	AZT	-	2 $\mu$ L
Acetato de ( <i>Z</i> )-9-hexadecenila <sup>1</sup>	AZH	2 mg/mL	20 $\mu$ L
<i>Z</i> -9-octadecenoato de hexadecila <sup>2</sup>	OH	1 mg/mL	20 $\mu$ L
<i>Z</i> -9-octadecenoato de octadecila <sup>2</sup>	OO	2 mg/mL	10 $\mu$ L
Mistura do butirato de decila e do butirato de dodecila	MB	-	2 $\mu$ L de cada
Mistura de todos os butiratos (C10, C12, C14 e C16)	MTB	-	2 $\mu$ L de cada
Mistura do octanoato de decila e do octanoato de dodecila	MO	-	2 $\mu$ L de cada
Mistura do acetato de tetradecila e do acetato de hexadecila	MA	-	2 $\mu$ L de cada
Mistura do ( <i>S</i> )-2-heptanol e do ( <i>S</i> )-2-nonanol	MS2OL	-	2 $\mu$ L de cada
Mistura da 2-heptanona, 2-nonanona e 2-undecanona	MC	-	2 $\mu$ L de cada
Mistura do acetato de ( <i>Z</i> )-9-tetradecenila e do acetato de ( <i>Z</i> )-9-hexadecenila	MAI	-	2 $\mu$ L de cada
Mistura do <i>cis</i> -9-octadecenoato de hexadecila e do <i>cis</i> -9-octadecenoato de octadecila	MEL	40 $\mu$ L e 20 $\mu$ L	60 $\mu$ L
Mistura de butirato de decila, butirato de dodecila, acetato de ( <i>Z</i> )-9-hexadecenila, butirato de tetradecila, octanoato de decila e octanoato de dodecila	M1	(20, 300, 25, 50, 100 e 100 $\mu$ g)/ mL	40 $\mu$ L
Mistura de butirato de dodecila, octanoato de decila, acetato de ( <i>Z</i> )-9-hexadecenila, butirato de tetradecila e octanoato de dodecila	M2	(300, 200, 75, 150 e 200 $\mu$ g)/ mL	40 $\mu$ L

\*Estes compostos foram isolados de extratos epicuticulares de vinte rainhas fisogástricas utilizando sílica gel e nitrato de prata (20%), obtendo estas frações com: *n*-alcanos + metil alcanos (C22, C23, 11-Me-C23, 5-Me-C23, 3-Me-C23, C25, C27, C29 e C31); *n*-alcanos (C21:1, C23:1, C25:1, C26:1, C27:1, C29:1 e C31:1); *n*-alcanos + ésteres (C21:1, C23:1, C25:1, C26:1, C27:1, C29:1, C31:1, hexanoato de hexila, butirato de decila, butirato de dodecila, acetato de tetradecila, octanoato de decila, butirato de tetradecila, octanoato de dodecila, acetato de 5-tetradecenila, acetato de tetradecenila (outro isômero), acetato de 7-hexadecenila e acetato de 9-hexadecenila); e acetatos insaturados (acetato de 5-tetradecenila, acetato de tetradecenila (outro isômero), acetato de 7-hexadecenila e acetato de 9-hexadecenila). <sup>o</sup>Os extratos foram concentrados em fluxo de nitrogênio para prevenir a perda dos compostos mais voláteis e a mudança da razão entre eles. <sup>†</sup>O dobro destas quantidades também foi testado. <sup>1</sup>Padrão comercial. <sup>2</sup>Padrão sintético.

## **8.6. Formigas lava-pés *Solenopsis saevissima***

Os indivíduos de cada casta foram obtidos de cinco ninhos inteiros (ninhos 1 a 5) coletados no distrito de Pedro do Rio, Petrópolis-RJ (22°20'30"S 43°07'44"W) e três ninhos inteiros (ninhos 6 a 8) coletados na cidade de Ubatuba-SP (23°26'13"S 43°04'08"W) seguindo os métodos para a manipulação e criação desses insetos em laboratório (Banks *et al.*, 1981). A identificação da espécie foi baseada em uma série de caracteres e traços adicionais úteis (Dall'Aglio-Holvorcem *et al.*, 2009; Pitts *et al.*, 2005). Indivíduos testemunhos estão depositados na Coleção Entomológica "Adolph Hempel" (CEAH) do Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo-SP (Fox *et al.*, 2012).

### **8.6.1. Alcalóides do veneno de *Solenopsis saevissima***

As operárias e as rainhas *S. saevissima* foram mortas no freezer (-18°C) e seus sacos de veneno foram dissecados empregando uma pinça fina e um microscópio binocular pelo Dr. Eduardo G. P. Fox. Cada amostra (três sacos de veneno, em triplicata) foi macerada em acetato de etila bidestilado e as amostras foram evaporadas em fluxo de nitrogênio. O veneno foi pesado, dissolvido em acetato de etila (1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) e analisado por CG-EM (Fox *et al.*, 2012).

### 8.6.1.1. Isolamento das *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas naturais

Todas as operárias pequenas ( $N > 1000$ ) e rainhas ( $N \sim 50$ ) dos ninhos 3 e 4 de Pedro do Rio-RJ (Capítulo 2, Tabela 10) foram separadas, mortas no freezer ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) e maceradas inteiras com acetato de etila destilado (50 mL). O solvente foi removido a vácuo e os extratos foram analisados por CCD e CG-EM. Os hidrocarbonetos dos extratos foram removidos em um funil de Buchner com placa porosa de vidro sinterizado utilizando sílica gel (1 g) e eluindo com acetato de etila destilado (300 mL) e metanol destilado/ $\text{NH}_4\text{OH}$  [9:1, respectivamente (v/v); 400 mL], sendo analisados por CCD e CG-EM. A primeira fração tinha somente hidrocarbonetos, enquanto a segunda fração tinha somente os alcalóides (operárias pequenas - ninho 3: 72,3 mg; operárias pequenas - ninho 4: 127,2 mg; rainhas - ninho 3: 10,2 mg; rainhas - ninho 4: 16,6 mg). Somente os alcalóides de operárias pequenas e rainhas do ninho 3 foram analisados por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ :

***cis*- e *trans*-2-Metil-6-undecilpiperidinas** (alcalóides das rainhas – ninho 3):

**RMN de  $^1\text{H}$**  (499,88 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,92$  Hz, 6H), 1,25 – 1,80 (m, 58H), 1,89-1,95 (s, 2H), 2,85 (m, 1H), 3,03 (m, 1H), 3,27 (m, 1H), 3,51 (m, 1H). **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (125,71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,11 ( $\text{CH}_3$ ), 14,12 ( $\text{CH}_3$ ), 17,00 ( $\text{CH}_3$ ), 17,46 ( $\text{CH}_2$ ), 19,45 ( $\text{CH}_3$ ), 22,67 ( $\text{CH}_2$ ), 22,70 ( $\text{CH}_2$ ), 23,10 ( $\text{CH}_2$ ), 25,68 ( $\text{CH}_2$ ), 25,94 ( $\text{CH}_2$ ), 26,07 ( $\text{CH}_2$ ), 27,67 ( $\text{CH}_2$ ), 29,02 ( $\text{CH}_2$ ), 29,36 ( $\text{CH}_2$ ), 29,45 ( $\text{CH}_2$ ), 29,48 ( $\text{CH}_2$ ), 29,61 ( $\text{CH}_2$ ), 29,63 ( $\text{CH}_2$ ), 29,65 ( $\text{CH}_2$ ), 29,67 ( $\text{CH}_2$ ), 29,68 ( $\text{CH}_2$ ), 30,60 ( $\text{CH}_2$ ), 30,78 ( $\text{CH}_2$ ), 31,93 ( $\text{CH}_2$ ), 33,33 ( $\text{CH}_2$ ), 47,71 (CH), 51,61 (CH), 53,98 (CH), 58,02 (CH). **EM** (70 eV),  $m/z$  (%) – mesmo espectro de massas para ambos os compostos: 253

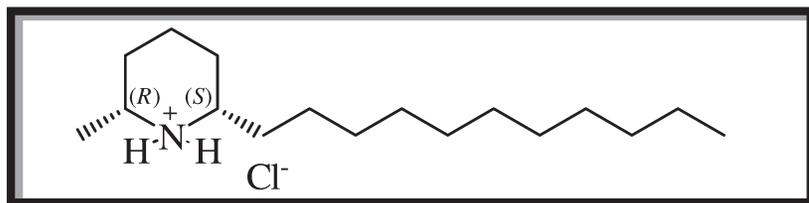
(M<sup>+</sup>, 1), 252 (2), 238 (3), 224 (1), 210 (1), 154 (1), 126 (1), 111 (1), 98 (pico base, 100), 81 (2), 70 (2), 55 (5), 41 (5) (de acordo com Girard *et al.*, 2004; Jefford e Wang, 1993).

**trans-2-Metil-6-undecilpiperidina** (alcalóides das operárias pequenas – ninho 3): **RMN de <sup>1</sup>H** (499,88 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,95$  Hz, 3H), 1,25 – 1,80 (m, 29H), 1,96 (s, 1H), 3,09 (m, 1H), 3,31 (m, 1H). **RMN de <sup>13</sup>C** (125,71 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS):  $\delta$  14,12 (CH<sub>3</sub>), 18,25 (CH<sub>2</sub>), 18,52 (CH<sub>3</sub>), 22,71 (CH<sub>2</sub>), 26,13 (CH<sub>2</sub>), 27,87 (CH<sub>2</sub>), 29,37 (CH<sub>2</sub>), 29,58 (CH<sub>2</sub>), 29,60 (CH<sub>2</sub>), 29,61 (CH<sub>2</sub>), 29,65 (CH<sub>2</sub>), 29,67 (CH<sub>2</sub>), 29,75 (CH<sub>2</sub>), 30,52 (CH<sub>2</sub>), 31,93 (CH<sub>2</sub>), 46,71 (CH), 51,07 (CH). **EM** (70 eV),  $m/z$  (%): 253 (M<sup>+</sup>, 0,1), 252 (1), 238 (3), 224 (1), 210 (1), 154 (1), 126 (1), 111 (1), 98 (pico base, 100), 81 (2), 70 (2), 55 (5), 41 (5) (de acordo com Girard *et al.*, 2004; Jefford e Wang, 1993).

#### **8.6.1.2. Hidrocloretos dos alcalóides naturais de *Solenopsis saevissima***

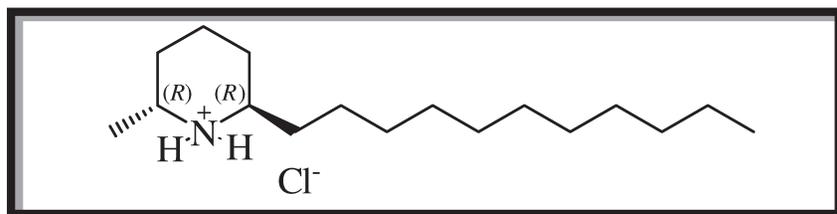
Os alcalóides purificados dos venenos das rainhas dos ninhos 3 e 4 (26,8 mg da *cis*- and *trans*-2-metil-6-undecilpiperidina) foram separados por cromatografia em coluna ( $d = 0,8$  cm,  $h = 40,0$  cm) com sílica gel 60 (0,035–0,070 mm, Merck, 9 g) eluindo com acetato de etila, acetato de etila/ metanol (95:5), acetato de etila/ metanol (9:1) e acetato de etila/ metanol (4:1) destilados, obtendo 52 frações de 2 mL. Cada fração foi analisada diretamente por CG-EM. Os alcalóides *cis*-2-metil-6-undecilpiperidina (6 mg, *rd* 97:3) e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidina (4 mg, *rd* 98:2) isolados foram solubilizados em éter etílico seco (1 mL) e uma pequena quantidade de uma solução de éter

etílico seco saturado com  $\text{HCl}_{(g)}$  (~ 3 mL) foi adicionada. O solvente foi evaporado em temperatura ambiente e os hidrocloreto foram recristalizados com diclorometano/ éter etílico destilado e guardados em dessecador (Leclercq *et al.*, 1994). Obs.: o  $\text{HCl}_{(g)}$  foi produzido pela reação entre cloreto de cálcio e ácido sulfúrico em um sistema fechado.



**Hidrocloreto da *cis*-2-metil-6-undecilpiperidina:**  $[\alpha]_D^{20} +7^\circ$  (c= 0,6,  $\text{CHCl}_3$ ), mesmo que o **hidrocloreto da (2*R*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina:** lit.  $[\alpha]_D^{24} +10,0^\circ$  (c= 1,1,  $\text{CHCl}_3$ ) (Poerwono *et al.*, 1998).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (499,87 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,95$  Hz, 3H), 1,25 – 1,80 (m, 29H), 2,04 (s, 2H), 2,89 (m, 1H), 3,07 (m, 1H). **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (125,69 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,12 ( $\text{CH}_3$ ), 19,51 ( $\text{CH}_3$ ), 22,70 ( $\text{CH}_2$ ), 22,94 ( $\text{CH}_2$ ), 25,74 ( $\text{CH}_2$ ), 27,60 ( $\text{CH}_2$ ), 29,36 ( $\text{CH}_2$ ), 29,40 ( $\text{CH}_2$ ), 29,58 ( $\text{CH}_2$ ), 29,64 ( $\text{CH}_2$ ), 29,71 ( $\text{CH}_2$ ), 30,87 ( $\text{CH}_2$ ), 31,93 ( $\text{CH}_2$ ), 33,29 ( $\text{CH}_2$ ), 54,64 (CH), 58,78 (CH) (de acordo com Poerwono *et al.*, 1998).



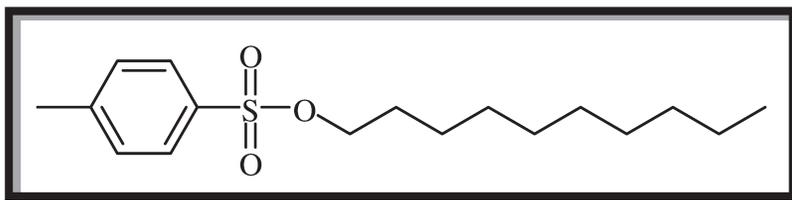
**Hidrocloreto da *trans*-2-metil-6-undecilpiperidina:**  $[\alpha]_D^{20} -4^\circ$  (c=0,67,  $\text{CHCl}_3$ ), levógiro como **hidrocloreto da (2*R*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina:** lit.  $[\alpha]_D^{20} -7,7^\circ$  (c=0,51,  $\text{CHCl}_3$ ) (Leclercq *et al.*, 1994).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (499,87 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,85$  Hz, 3H), 1,25 – 1,80 (m, 29H), 1,98 (s, 2H), 3,28 (m, 1H), 3,54 (m, 1H). **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (125,69 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,12 ( $\text{CH}_3$ ), 16,92 ( $\text{CH}_3$ ), 17,38 ( $\text{CH}_2$ ), 22,70 ( $\text{CH}_2$ ), 25,86 ( $\text{CH}_2$ ), 26,22 ( $\text{CH}_2$ ), 28,95 ( $\text{CH}_2$ ), 29,36 ( $\text{CH}_2$ ), 29,53 ( $\text{CH}_2$ ), 29,58 ( $\text{CH}_2$ ), 29,64 ( $\text{CH}_2$ ), 29,72 ( $\text{CH}_2$ ), 30,78 ( $\text{CH}_2$ ), 31,92 ( $\text{CH}_2$ ), 47,96 (CH), 51,79 (CH) (de acordo com Leclercq *et al.*, 1994).

## 8.6.2. Sínteses de padrões dos alcalóides piperidínicos

### 8.6.2.1. Tosilação dos *n*-álcoois

Piridina previamente tratada (4,57 mL) foi adicionada em uma solução de *n*-álcool (3000 mg, 18,95 mmol) em diclorometano seco (30 mL) que estava em agitação magnética e banho de gelo ( $0^\circ\text{C}$ ). O cloreto de *p*-toluenosulfonila (8670 mg, 45,48 mmol) foi adicionado lentamente e a mistura reacional foi mantida em agitação magnética por 12 h em  $25^\circ\text{C}$ , sendo monitorada por CCD. Após este tempo, foi adicionada uma solução aquosa de HCl gelada (aproximadamente 2 mol/L, 30 mL) e também diclorometano destilado (3x 30 mL). A fase orgânica foi separada em funil de separação, lavada com uma solução aquosa de  $\text{NaHCO}_3$  5% (30 ml), seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentrada a vácuo. O tosilato foi purificado em coluna cromatográfica com sílica gel (40 g), eluindo com hexano/acetato de etila destilado (7:3) (Kabalka *et al.*, 1986). Os seguintes tosilatos foram obtidos através desta reação (dados comparados com Choudary *et al.*, 2000):

**Tosilato de decila:**

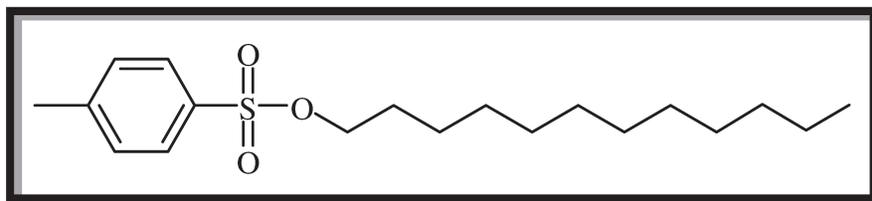
**Quantidade:** 4,22 g, 68,3% de rendimento após purificação.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (499,88 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 7,02$  Hz, 3H), 1,23 (m, 14H), 1,63 (quin,  $J = 7,0$  Hz, 2H), 2,45 (s, 3H), 4,02 (t,  $J = 6,55$  Hz, 2H), 7,34 (d,  $J = 8,05$  Hz, 2H), 7,79 (d, 8,30 Hz, 2H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (125,71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,06 ( $\text{CH}_3$ ), 21,59 ( $\text{CH}_3$ ), 22,62 ( $\text{CH}_2$ ), 25,29 ( $\text{CH}_2$ ), 28,78 ( $\text{CH}_2$ ), 28,88 ( $\text{CH}_2$ ), 29,22 ( $\text{CH}_2$ ), 29,35 ( $\text{CH}_2$ ), 29,41 ( $\text{CH}_2$ ), 31,82 ( $\text{CH}_2$ ), 70,68 ( $\text{OCH}_2$ ), 127,85 (CH), 129,76 (CH), 133,25 (C), 144,57 (C).

**IV** ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 2956 (=C-H), 2924 e 2857 (C-H), 1598 (C=C-C), 1465 (C-H), 1362 e 1176 (O=S=O, duas bandas fortes), 1098 (C-O), 965-933 (S=O), 830-814 (H-C=C-H, anel aromático *para*-substituído), 663 (C-S).

**EM** (70 eV),  $m/z$  (%): 312 ( $\text{M}^+$ , 0,1), 173 (pico base, 100), 172 (39), 155 (32), 140 (22), 112 (23), 97 (27), 91 (98), 83 (41), 70 (51), 55 (72), 43 (57), 41 (64).

**Tosilato de dodecila:**

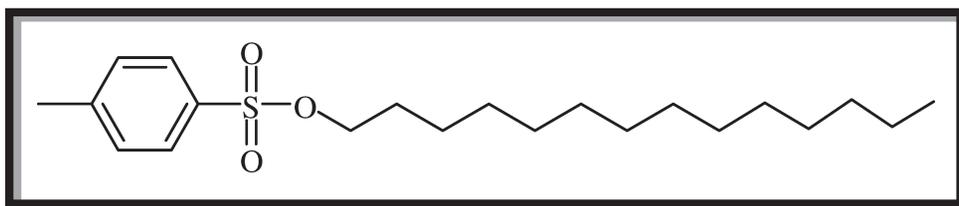
**Quantidade:** 3,52 g, 61,8% de rendimento após purificação.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (499,88 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,97$  Hz, 3H), 1,25 (m, 18H), 1,63 (quin,  $J = 7,0$  Hz, 2H), 2,45 (s, 3H), 4,02 (t,  $J = 6,55$  Hz, 2H), 7,34 (d,  $J = 8,00$  Hz, 2H), 7,79 (d,  $J = 8,35$  Hz, 2H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (125,71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,07 ( $\text{CH}_3$ ), 21,59 ( $\text{CH}_3$ ), 22,65 ( $\text{CH}_2$ ), 25,29 ( $\text{CH}_2$ ), 28,78 ( $\text{CH}_2$ ), 28,89 ( $\text{CH}_2$ ), 29,29 ( $\text{CH}_2$ ), 29,35 ( $\text{CH}_2$ ), 29,46 ( $\text{CH}_2$ ), 29,57 ( $\text{CH}_2$ ), 31,87 ( $\text{CH}_2$ ), 70,68 ( $\text{OCH}_2$ ), 127,85 (CH), 129,75 (CH), 133,25 (C), 144,57 (C).

**IV** ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 2953 (=C-H), 2922 e 2852 (C-H), 1598 (C=C-C), 1465 (C-H), 1362 e 1176 (O=S=O, duas bandas fortes), 1098 (C-O), 952-920 (S=O), 830-814 (H-C=C-H, anel aromático *para*-substituído), 664 (C-S).

**EM** (70 eV),  $m/z$  (%): 340 ( $\text{M}^+$ , 0,1), 173 (pico base, 100), 172 (38), 168 (24), 155 (24), 140 (13), 125 (7), 111 (16), 97 (24), 91 (48), 83 (24), 69 (23), 55 (23), 43 (19), 41 (17).



### **Tosilato de tetradecila:**

**Quantidade:** 3,14 g, 58,8% de rendimento após purificação.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (499,88 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,97$  Hz, 3H), 1,25 (m, 22H), 1,63 (quin,  $J = 7,0$  Hz, 2H), 2,45 (s, 3H), 4,02 (t,  $J = 6,55$  Hz, 2H), 7,34 (d,  $J = 8,00$  Hz, 2H), 7,79 (d,  $J = 8,30$  Hz, 2H).

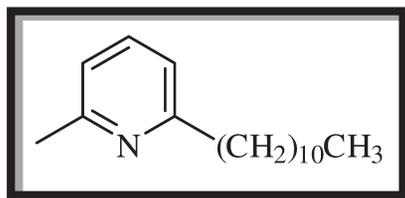
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (125,71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,09 ( $\text{CH}_3$ ), 21,59 ( $\text{CH}_3$ ), 22,66 ( $\text{CH}_2$ ), 25,30 ( $\text{CH}_2$ ), 28,79 ( $\text{CH}_2$ ), 28,90 ( $\text{CH}_2$ ), 29,32 ( $\text{CH}_2$ ), 29,36 ( $\text{CH}_2$ ), 29,47 ( $\text{CH}_2$ ), 29,57 ( $\text{CH}_2$ ), 29,62 ( $\text{CH}_2$ ), 29,63 ( $\text{CH}_2$ ), 29,65 ( $\text{CH}_2$ ), 31,89 ( $\text{CH}_2$ ), 70,69 ( $\text{OCH}_2$ ), 127,86 (CH), 129,76 (CH), 133,27 (C), 144,57 (C).

**IV** ( $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ): 2957 (=C-H), 2915 e 2848 (C-H), 1596 (C=C-C), 1473 (C-H), 1356 e 1172 (O=S=O, duas bandas fortes), 1098 (C-O), 956 (S=O), 836-812 (H-C=C-H, anel aromático *para*-substituído), 667 (C-S).

**EM** (70 eV),  $m/z$  (%): 368 ( $\text{M}^+$ , 0,1), 196 (25), 173 (pico base, 100), 172 (37), 168 (10), 155 (23), 139 (5), 125 (10), 111 (20), 97 (33), 91 (48), 83 (32), 69 (28), 55 (28), 43 (24), 41 (20).

### 8.6.2.2. Sínteses das 2-metil-6-alkilpiridinas

A 2,6-lutidina previamente tratada (344 mg, 3,21 mmol) foi solubilizada em 10 mL de THF seco em atmosfera de argônio com agitação magnética e banho de gelo (0°C). Uma solução hexânica de *n*-butillítio (10 mol/L, 0,32 mL, 3,21 mmol) foi adicionada lentamente e, após 15 min em temperatura ambiente com agitação magnética, a mistura reacional foi colocada em refluxo (35-40°C) por 15 min para a formação do intermediário carbânion. Subsequentemente, o tosilato correspondente (1000 mg, 3,21 mmol) foi adicionado lentamente durante 10 min. A reação foi monitorada por CCD e parada após 2 h e 30 min com pedaços de gelo, mantendo a agitação magnética e o banho de gelo (0°C). O produto foi extraído com a adição de água destilada (10 mL) e acetato de etila destilado (3x 100 mL). A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e o solvente foi evaporado a vácuo (MacConnell *et al.*, 1971). A 2-metil-6-alkilpiridina foi purificada em coluna cromatográfica com sílica gel (60 g) eluindo com os seguintes solventes: diclorometano e diclorometano/acetato de etila destilados (95:5). Os seguintes compostos purificados foram obtidos utilizando esta reação:



### **2-Metil-6-undecilpiridina:**

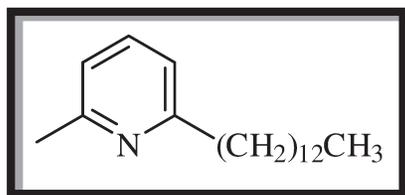
**Quantidade:** 153,7 mg, 19% de rendimento após purificação.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (499,88 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,82$  Hz, 3H), 1,29 (m, 16H), 1,68 (quin,  $J = 7,8$  Hz, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,74 (t,  $J = 7,92$  Hz, 2H), 6,94 (dd,  $J = 4,50, 4,40$  Hz, 1H), 7,43 (d,  $J = 8,00$  Hz, 1H), 7,46 (t,  $J = 7,65$  Hz, 1H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (62,89 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,08 ( $\text{CH}_3$ ), 22,66 ( $\text{CH}_2$ ), 24,51 ( $\text{CH}_3$ ), 29,32 ( $\text{CH}_2$ ), 29,47 ( $\text{CH}_2$ ), 29,50 ( $\text{CH}_2$ ), 29,55 ( $\text{CH}_2$ ), 29,60 ( $\text{CH}_2$ ), 29,62 ( $\text{CH}_2$ ), 30,22 ( $\text{CH}_2$ ), 31,89 ( $\text{CH}_2$ ), 38,59 ( $\text{CH}_2$ ), 119,40 (CH), 120,28 (CH), 136,40 (CH), 157,61(C), 161,94 (C).

**IV** ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 2917-2851 (C-H), 1590 (C=C-C), 1575 (C=C-C), 1454 (C=C-C), 1302 (C-N), 1140 e 1083 (C-H aromático), 814-674 (C-H aromático).

**EM** (70 eV),  $m/z$  (%): 247 ( $\text{M}^+$ , 2), 232 (0,1), 218 (1), 204 (2), 190 (2), 176 (2), 162 (3), 148 (3), 134 (11), 120 (19), 107 (pico base, 100), 93 (2), 79 (2), 65 (2), 53 (1), 41 (5).



### **2-Metil-6-tridecilpiridina:**

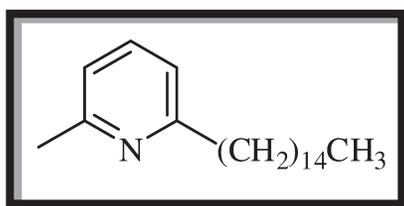
**Quantidade:** 191,0 mg, 24% de rendimento após purificação.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (400,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 7,00$  Hz, 3H), 1,25 (m, 20H), 1,69 (quin,  $J = 7,8$  Hz, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,74 (t,  $J = 7,90$  Hz, 2H), 6,94 (dd,  $J = 3,44, 3,36$  Hz, 1H), 7,43 (d,  $J = 8,80$  Hz, 1H), 7,46 (t,  $J = 7,66$  Hz, 1H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (100,61 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,07 ( $\text{CH}_3$ ), 22,65 ( $\text{CH}_2$ ), 24,49 ( $\text{CH}_3$ ), 29,31 ( $\text{CH}_2$ ), 29,41 ( $\text{CH}_2$ ), 29,46 ( $\text{CH}_2$ ), 29,49 ( $\text{CH}_2$ ), 29,54 ( $\text{CH}_2$ ), 29,57 ( $\text{CH}_2$ ), 29,61 ( $\text{CH}_2$ ), 29,62 ( $\text{CH}_2$ ), 29,65 ( $\text{CH}_2$ ), 30,21 ( $\text{CH}_2$ ), 31,88 ( $\text{CH}_2$ ), 38,57 ( $\text{CH}_2$ ), 119,38 (CH), 120,26 (CH), 136,38 (CH), 157,59 (C), 161,93 (C).

**IV** ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 2917-2851 (C-H), 1590 (C=C-C), 1575 (C=C-C), 1466 (C-H), 1453 (C=C-C), 1304 (C-N), 1140 e 1084 (C-H aromático), 814-674 (C-H aromático).

**EM** (70 eV),  $m/z$  (%): 275 ( $\text{M}^+$ , 6), 260 (1), 246 (2), 232 (3), 218 (2), 204 (2), 190 (3), 176 (4), 162 (5), 148 (4), 134 (16), 120 (25), 107 (pico base, 100), 93 (2), 79 (1), 65 (1), 55 (1), 41 (3).



### **2-Metil-6-pentadecilpiridina:**

**Quantidade:** 125,5 mg, 15% de rendimento após purificação.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (400,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,82$  Hz, 3H), 1,25 (m, 24H), 1,69 (quin,  $J = 7,8$  Hz, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,74 (t,  $J = 7,90$  Hz, 2H), 6,94 (dd,  $J = 3,60, 3,56$  Hz, 1H), 7,43 (d,  $J = 8,40$  Hz, 1H), 7,46 (t,  $J = 7,44$  Hz, 1H).

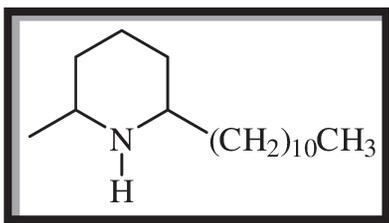
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (100,61 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,08 ( $\text{CH}_3$ ), 22,66 ( $\text{CH}_2$ ), 24,51 ( $\text{CH}_3$ ), 29,33 ( $\text{CH}_2$ ), 29,42 ( $\text{CH}_2$ ), 29,50 ( $\text{CH}_2$ ), 29,54 ( $\text{CH}_2$ ), 29,62 ( $\text{CH}_2$ ), 29,66 ( $\text{CH}_2$ ), 30,21 ( $\text{CH}_2$ ), 31,89 ( $\text{CH}_2$ ), 38,59 ( $\text{CH}_2$ ), 119,38 (CH), 120,26 (CH), 136,37 (CH), 157,60 (C), 161,94 (C).

**IV** ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 2914-2849 (C-H), 1589 (C=C-C), 1573 (C=C-C), 1467 (C-H), 1454 (C=C-C), 1302 (C-N), 1140 e 1083 (C-H aromático), 814-675 (C-H aromático).

**EM** (70 eV),  $m/z$  (%): 303 ( $\text{M}^+$ , 4), 288 (0,1), 274 (1), 260 (2), 246 (1), 232 (1), 218 (1), 204 (1), 190 (2), 176 (3), 162 (4), 148 (3), 134 (12), 120 (20), 107 (pico base, 100), 93 (1), 79 (1), 65 (1), 55 (1), 41 (3).

### 8.6.2.3. Sínteses das 2-metil-6-alkuilpiperidinas

As 2-metil-6-alkuilpiridina (59,8 mg de undecila, 91,1 mg de tridecila e 152,6 mg de pentadecila) foram solubilizadas em 8 mL de metanol destilado e 40 mL de ácido acético glacial. Então, foi adicionado 110 mg de Pt/C 10%. A reação de hidrogenação foi mantida em pressão de 70 psi de  $\text{H}_2$  (g) com agitação por 72 h. A mistura reacional foi filtrada em um funil de Buchner com placa porosa de vidro sinterizado com Celite 545 (2 g) eluindo com 50 mL de metanol destilado (Glorius *et al.*, 2004). O solvente foi evaporado a vácuo e o produto foi analisado por CCD e CG-EM. As 2-metil-6-alkuilpiperidinas foram purificadas em coluna cromatográfica de sílica gel (10 g) eluindo com diclorometano/acetato de etila (9:1), diclorometano/acetato de etila (1:1), acetato de etila e metanol destilados. Os seguintes compostos purificados foram obtidos utilizando esta reação (dados comparados com Girard *et al.*, 2004; Jefford e Wang, 1993):



**(±)-cis- e (±)-trans-2-Metil-6-undecilpiperidinas:**

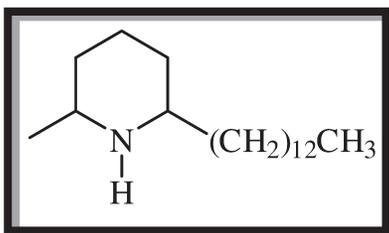
**Quantidade:** 97,3 mg, 99% de rendimento após purificação.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (499,87 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,90$  Hz, 3H), 1,25 – 1,80 (m, 29H), 1,95 (s, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,86 (m, 1H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (125,69 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,12 ( $\text{CH}_3$ ), 21,00 ( $\text{CH}_3$ ), 22,70 ( $\text{CH}_2$ ), 23,91 ( $\text{CH}_2$ ), 25,78 ( $\text{CH}_2$ ), 29,36 ( $\text{CH}_2$ ), 29,60 ( $\text{CH}_2$ ), 29,65 ( $\text{CH}_2$ ), 29,68 ( $\text{CH}_2$ ), 31,93 ( $\text{CH}_2$ ), 32,38 ( $\text{CH}_2$ ), 35,13 ( $\text{CH}_2$ ), 52,95 (CH), 57,27 (CH).

**IV** ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3310 (N-H), 2917 e 2851 (C-H), 1648-1581 (N-H), 1412-1339 (C-N), 1088-1051 (C-H aromático), 650-621 (N-H).

**EM** (dois picos no cromatograma com o mesmo espectro de massas; 70 eV),  $m/z$  (%): 253 ( $\text{M}^+$ , 1), 252 (3), 238 (6), 224 (1), 210 (1), 154 (1), 126 (1), 111 (1), 98 (pico base, 100), 81 (1), 70 (2), 55 (3), 41 (3).



**(±)-cis- e (±)-trans-2-Metil-6-tridecylpiperidinas:**

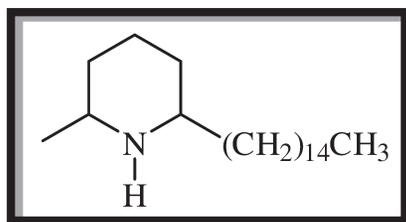
**Quantidade:** 83,3 mg, 89% de rendimento após purificação.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (250,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,49$  Hz, 3H), 1,25 – 1,80 (m, 33H), 1,95 (s, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,87 (m, 1H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (62,89 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,10 ( $\text{CH}_3$ ), 20,67 ( $\text{CH}_3$ ), 22,68 ( $\text{CH}_2$ ), 23,76 ( $\text{CH}_2$ ), 25,73 ( $\text{CH}_2$ ), 29,25 ( $\text{CH}_2$ ), 29,35 ( $\text{CH}_2$ ), 29,58 ( $\text{CH}_2$ ), 29,65 ( $\text{CH}_2$ ), 29,67 ( $\text{CH}_2$ ), 31,91 ( $\text{CH}_2$ ), 32,03 ( $\text{CH}_2$ ), 34,75 ( $\text{CH}_2$ ), 52,97 ( $\text{CH}$ ), 57,23 ( $\text{CH}$ ).

**IV** ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3307 (N-H), 2912 e 2846 (C-H), 1561 (N-H), 1403 (C-N), 1084-1045 (C-H aromático), 641 (N-H).

**EM** (dois picos no cromatograma com o mesmo espectro de massas; 70 eV),  $m/z$  (%): 281 ( $\text{M}^+$ , 2), 280 (4), 266 (7), 252 (1), 238 (1), 224 (0,1), 154 (1), 126 (1), 111 (1), 98 (pico base, 100), 83 (1), 69 (2), 55 (3), 43 (3).



**(±)-cis- e (±)-trans-2-Metil-6-pentadecilpiperidinas:**

**Quantidade:** 102,7 mg, 65% de rendimento após purificação.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (250,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,48$  Hz, 3H), 1,25 – 1,80 (m, 37H), 1,96 (s, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,84 (m, 1H).

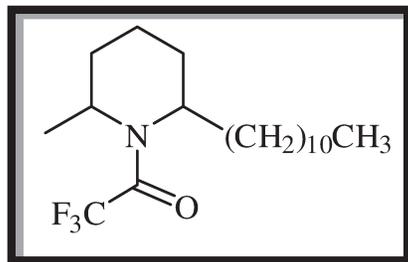
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (62,89 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS):  $\delta$  14,10 ( $\text{CH}_3$ ), 20,91 ( $\text{CH}_3$ ), 22,68 ( $\text{CH}_2$ ), 23,87 ( $\text{CH}_2$ ), 25,75 ( $\text{CH}_2$ ), 29,35 ( $\text{CH}_2$ ), 29,58 ( $\text{CH}_2$ ), 29,69 ( $\text{CH}_2$ ), 31,92 ( $\text{CH}_2$ ), 32,28 ( $\text{CH}_2$ ), 35,01 ( $\text{CH}_2$ ), 52,93 ( $\text{CH}$ ), 57,23 ( $\text{CH}$ ).

**IV** ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3304 (N-H), 2915 e 2846 (C-H), 1645-1566 (N-H), 1409-1341 (C-N), 1085-1046 (C-H aromático), 653-618 (N-H).

**EM** (dois picos no cromatograma com o mesmo espectro de massas; 70 eV),  $m/z$  (%): 309 ( $\text{M}^+$ , 2), 308 (4), 294 (6), 280 (0,1), 266 (1), 154 (1), 111 (3), 98 (pico base, 100), 84 (1), 70 (2), 55 (3), 41 (3).

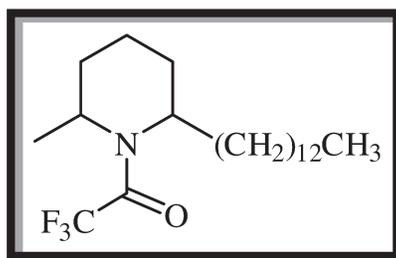
### 8.6.2.4. Trifluoracetilação dos alcalóides

Os alcalóides foram solubilizados em éter etílico seco (1 mL) e piridina tratada (0,8 mL). Depois anidrido trifluoroacético (0,8 mL) e ácido trifluoroacético (0,1 mL) foram adicionados lentamente com agitação magnética e banho de glicerina (30°C) por 30 min (Kusch *et al.*, 2006). A reação foi parada pela adição de acetato de etila destilado (20 mL) e uma solução aquosa de sulfato de cobre saturada (2x 20 mL). A fase orgânica foi separada em funil de separação, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, concentrada a vácuo e analisada por CG-EM e CG quiral.



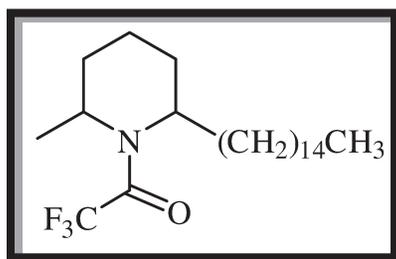
#### Trifluoroacetamidas da (±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidina:

EM (dois picos no cromatograma com o mesmo espectro de massas; 70 eV),  $m/z$  (%): 349 ( $M^+$ , 0,1), 334 (1), 280 (4), 194 (pico base, 100), 140 (5), 81 (7), 55 (11), 41 (4).



#### Trifluoroacetamidas da (±)-*cis*- e (±)-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidina:

EM (dois picos no cromatograma com o mesmo espectro de massas; 70 eV),  $m/z$  (%): 377 ( $M^+$ , 0,1), 362 (1), 308 (4), 194 (pico base, 100), 140 (4), 81 (6), 55 (11), 41 (4).

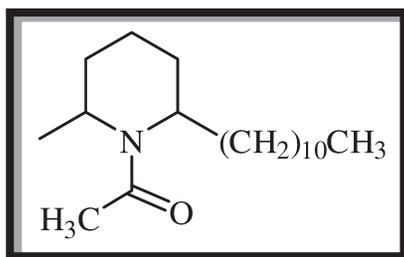


#### **Trifluoroacetamidas da (±)-*cis* e (±)-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidina:**

EM (dois picos no cromatograma com o mesmo espectro de massas; 70 eV),  $m/z$  (%): 405 ( $M^+$ , 0,1), 390 (1), 336 (4), 194 (pico base, 100), 140 (3), 81 (6), 55 (10), 41 (3).

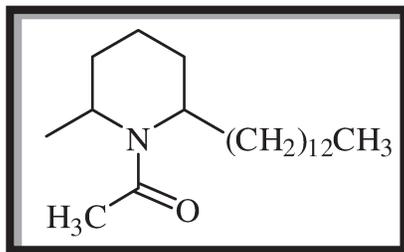
#### **8.6.2.5. Acilação de Schotten-Baumann dos alcalóides**

Os alcalóides (1 eq) foram dissolvidos em diclorometano (10 mL) em um balão de 50 mL e adicionou uma solução aquosa de  $K_2CO_3$  (2 mol/L, 10 mL). A mistura reacional foi agitada vigorosamente e cloreto de acetila tratado (3 eq, solubilizado com diclorometano destilado) foi adicionado lentamente na reação que permaneceu durante a noite em agitação magnética (25°C) (Bamane *et al.*, 2011). A reação foi parada pela adição de uma solução aquosa de  $Na_2CO_3$  saturada (2x) e a fase orgânica foi separada em funil de separação, seca com  $Na_2SO_4$  anidro, concentrada a vácuo e analisada por CG-EM e CG quiral.



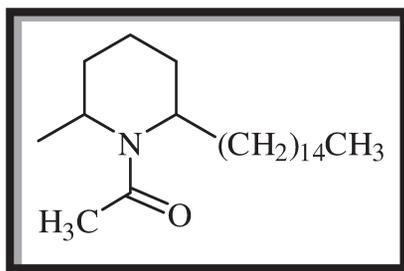
**Acetamidas ( $\pm$ )-cis- e ( $\pm$ )-trans-2-metil-6-undecilpiperidina:**

EM (dois picos no cromatograma com o mesmo espectro de massas; 70 eV),  
 $m/z$  (%): 295 ( $M^+$ , 2), 280 (3), 252 (3), 238 (4), 140 (pico base, 100), 98 (66),  
 55 (6), 43 (10).



**Acetamidas da ( $\pm$ )-cis- e ( $\pm$ )-trans-2-metil-6-tridecilpiperidina:**

EM (dois picos no cromatograma com o mesmo espectro de massas; 70 eV),  
 $m/z$  (%): 323 ( $M^+$ , 2), 308 (3), 280 (2), 266 (3), 140 (pico base, 100), 98 (54),  
 55 (5), 43 (8).



**Acetamidas da ( $\pm$ )-cis- e ( $\pm$ )-trans-2-metil-6-pentadecilpiperidina:**

EM (dois picos no cromatograma com o mesmo espectro de massas; 70 eV),  
 $m/z$  (%): 351 ( $M^+$ , 2), 336 (3), 308 (3), 294 (3), 140 (pico base, 100), 98 (44),  
 55 (5), 43 (7).



---

# REFERÊNCIAS

---



## 9. Referências bibliográficas

Abdalla, F. C.; Cruz-Landim, C.; Graciolli, L. F. Tegumentary epithelial glands in the abdomen of virgin and physogastric queens of the stingless bee *Scaptotrigona postica* Latreille (Meliponini: Trigonina). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 41-45, 2005.

Abdalla, F. C.; Jones, G. R.; Morgan, D.; Cruz-Landim, C. Chemical composition of the Dufour gland secretion in queens of *Melipona bicolor* (Hymenoptera: Meliponini). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 621-625, 2004.

Adams, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. Illinois: Allured Publishing Corporation, 1995.

Allinger, N. L.; Cava, M. P.; Dejongh, D. C.; Lebel, N. A.; Stevens, C. L. **Química Orgânica**. 2ª. edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1978.

Alves-dos-Santos, I.; Machado, I. C.; Gaglianone, M. C. História natural das abelhas coletoras de óleo. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, p. 544-557, 2007.

Araujo, M. B.; Tschinkel, W. R. Worker allometry in relation to colony size and social form in the fire ant *Solenopsis invicta*. **Journal of Insect Science**, v. 10, p. 1-10, 2010.

Attygalle, A. B.; Morgan, E. D. Chemicals from the glands of ants. **Chemical Society Reviews**, v. 13, p. 245-278, 1984.

Baer, H.; Liu, T. Y.; Anderson, M. C.; Blum, M.; Schmid, W. H.; James, F. J. Protein components of fire ant venom (*Solenopsis invicta*). **Toxicon**, v. 17, p. 397-405, 1979.

Bamane, R. V.; Rakholiya, V. K.; Chitre, T. S. Application of Schotten-Baumann reaction: synthesis of some tetrahydroquinoline-3-carbohydrazide derivatives. **Heterocyclic Letters**, v. 1, p. 263-268, 2011.

Banks, W. A.; Lofgren, C. S.; Jouvenaz, D. P.; Stringer, C. E.; Bishop, P. M.; Williams, D. F.; Wojcik, D. P.; Glancey, B. M. **Techniques for Collecting**,

**Rearing, and Handling Imported Fire Ants.** New Orleans: USDA, SEA, AAT-S-21, 1981.

Barth, F. G.; Hrnčir, M.; Jarau, S. Signals and cues in the recruitment behavior of stingless bees (*Meliponini*). **Journal of Comparative Physiology A**, v. 194, p. 313-327, 2008.

Baydar, H. Oil-bearing rose (*Rosa damascene* Mill.) cultivation and rose oil industry in Turkey. **Euro Cosmetics**, v. 14, p. 13-17, 2006.

Bell, W. J.; Cardé, R. T. **Chemical Ecology of Insects.** Sunderland: Sinauer Associates, Inc., 1984.

Billen, J. Signal variety and communication in social insects. **Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting**, v. 17, p. 9-25, 2006.

Brand, J. M.; Blum, M. S.; Fales, H. M.; MacConnell, J. G. Fire ant venoms: comparative analyses of alkaloidal components. **Toxicon**, v. 10, p. 259-271, 1972.

Brewster, J. W.; Ciotti-Jr, C. J. Dehydrations with aromatic sulfonyl halides in pyridine. A convenient method for the preparation of esters. **Journal of the American Chemical Society**, v. 77, p. 6214-6215, 1955.

Buser, H. R.; Arn, H.; Guerin, P.; Rauscher, S. Determination of double bond position in mono-unsaturated acetates by mass spectrometry of dimethyl disulfite adducts. **Analytical Chemistry**, v. 55, p. 818-822, 1983.

Camargo, C. A. Determinação de castas em *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 32, p. 133-138, 1972.

Campos, L. A. O.; Melo, G. A. R. Physogastric-queen mating in *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Genética**, v. 13, p. 491-500, 1990.

Carlson, D. A.; Roan, C. S.; Yost, R. A.; Hector, J. Dimethyl disulfite derivatives of long chain alkenes, alkadienes, and alkatrienes for gas chromatography/mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 61, p. 1564-1571, 1989.

Carvalho-Zilse, G. A.; Kerr, W. E. Substituição natural de rainhas fisogástricas e distância de vôo dos machos em Tiuba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith, 1954) e Uruçu (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) (Apidae, Meliponini). **Acta Amazonica**, v. 34, p. 649-652, 2004.

Chen, J.; Cantrell, C. L.; Shang, H.W.; Rojas, M. G. Piperidine alkaloids from the poison gland of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 3128-3133, 2009a.

Chen, L.; Fadamiro, H. Y. Re-investigation of venom chemistry of *Solenopsis* fire ants. I. Identification of novel alkaloids in *S. richteri*. **Toxicon**, v. 53, p. 469-478, 2009b.

Chen, L.; Fadamiro, H. Y. Re-investigation of venom chemistry of *Solenopsis* fire ants. II. Identification of novel alkaloids in *S. invicta*. **Toxicon**, v. 53, p. 479-486, 2009c.

Choudary, B. M.; Choudari, N. S.; Kantam, M. L. Montmorillonite clay catalyzed tosylation of alcohols and selective monotosylation of diols with *p*-toluenesulfonic acid: an enviro-economic route. **Tetrahedron**, v. 56, p. 7291-7298, 2000.

Cruz-López, L.; Malo, E. A.; Morgan, E. D.; Rincon, M.; Guzmán, M.; Rojas, J. C. Mandibular gland secretion of *Melipona beecheii*: chemistry and behavior. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, p. 1621-1632, 2005.

Cruz-López, L.; Patricio, E. F. L. R. A.; Morgan, E. D. Secretions of stingless bees: the Dufour gland of *Nannotrigona testaceicornis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, p. 69-80, 2001.

Dall'Aglio-Holvorcem, C. G.; Benson, W. W.; Gilbert, L. E.; Trager, J. C.; Trigo, J. R. Chemical tools to distinguish the fire ant species *Solenopsis invicta* and *S. saevissima* (Formicidae: Myrmicinae) in Southeast Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, p. 442-451, 2009.

Deslippe, R. J.; Guo, Y. J. Venom alkaloids of the fire ants in relation to worker size and age. **Toxicon**, v. 38, p. 223-232, 2000.

Dewick, P. M. **Medicinal Natural Products – A Biosynthetic Approach**. 3<sup>rd</sup> ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2009.

Dias, L. C. **Diastereosseletividade 1,3 na redução de  $\beta$ -aminocetonas acíclicas. Aplicação de íons N-acilimínio na síntese de alcalóides piperidínicos, quinolizidínicos e indolizidínicos.** Volume I, Tese de Doutorado, Instituto de Química - UNICAMP, Campinas-SP, 1993.

Engels, W. Pheromones and reproduction in Brazilian stingless bees. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 35-45, 1987.

Engels, E.; Engels, W. Age-dependent queen attractiveness for drones and mating in the stingless bee, *Scaptotrigona postica*. **Journal of Apicultural Research**, v. 27, p. 3-8, 1988.

Engels, E.; Engels, W.; Lübke, G.; Schröder, W.; Francke, W. Age-related patterns of volatile cephalic constituents in queens of the neotropical stingless bee *Scaptotrigona postica* Latr. (Hymenoptera, Apidae). **Apidologie**, v. 24, p. 539-548, 1993.

Engels, W.; Engels, E.; Lübke, G.; Schröder, W.; Francke, W. Volatile cephalic secretions of drones, queens and workers in relation to reproduction in the stingless bee, *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera: Apidae: Trigonini). **Entomologia Generalis**, v. 15, p. 91-101, 1990.

Fernández-Meléndez, S.; Miranda, A.; García-González, J. J.; Barber, D.; Lombardero, M. Anaphylaxis caused by imported red fire ant stings in Málaga, Spain. **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**, v. 17, p. 48-49, 2007.

Ferreira-Caliman, M. J.; Nascimento, F. S.; Turatti, I. C.; Mateus, S.; Lopes, N. P.; Zucchi, R. The cuticular hydrocarbons profile in the stingless bee *Melipona marginata* reflect task-related differences. **Journal of Insect Physiology**, v. 56, p. 800-804, 2010.

Fierro, M. M.; Cruz-López, L.; Sánchez, D.; Villanueva-Gutiérrez, R.; Vandame, R. Queen volatiles as a modulator of *Tetragonisca angustula* drone behavior. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, p. 1255-1262, 2011.

Fox, E. G. P.; Pianaro, A.; Solis, D. R.; Delabie, J. H. C.; Vairo, B. C.; Machado, E. A.; Bueno, O. C. Intraspecific and intracolony variation in the profile of venom alkaloids and cuticular hydrocarbons of the fire ant

*Solenopsis saevissima* Smith (Hymenoptera: Formicidae). **Psyche: A Journal of Entomology**, v. 2012, p. 1-10, 2012.

Francke, W.; Lübke, G.; Schröder, W.; Reckziegel, A.; Imperatriz-Fonseca, V. L.; Kleinert, A.; Engels, E.; Hartfelder, K.; Radtke, R.; Engels, W. Identification of oxygen containing volatiles in cephalic secretions of workers of Brazilian stingless bees. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 11, p. 562-571, 2000.

Francke, W.; Schulz, S. Pheromones. In: Barton, D.; Nakanishi, K. (eds.) **Comprehensive Natural Products Chemistry - Pheromones**. Amsterdam: Elsevier, v. 8, p. 197-261, 1999.

Garraffo, H. M.; Simon, L. D.; Daly, J. W.; Spande, T. F.; Jones, T. H. *Cis*- and *trans*-configurations of  $\alpha, \alpha'$ -disubstituted piperidines and pyrrolidines by GC-FTIR; application to decahydroquinoline stereochemistry. **Tetrahedron**, v. 50, p. 11329-11338, 1994.

Girard, N.; Gautier, C.; Malassene, R.; Hurvois, J.-P.; Moinet, C.; Toupet, L. Dearomatization of *N*-phenyl-2,6-dialkylpiperidines: practical synthesis of ( $\pm$ )-solenopsin A and ( $\pm$ )-dihydropinidine. **Synlett**, v. 2004, p. 2005-2009, 2004.

Girard, N.; Hurvois, J.-P.; Toupet, L.; Moinet, C. Anodic cyanation of (-)-*N*-phenyl-2-methylpiperidine: a short synthesis of (+)-solenopsin A and (+)-isosolenopsin A. **Synthetic Communications**, v. 35, p. 711-723, 2005.

Glorius, F.; Spielkamp, N.; Holle, S.; Goddard, R.; Lehmann, C. W. Efficient asymmetric hydrogenation of pyridines. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 43, p. 2850-2852, 2004.

Grajales-Conesa, J.; Rojas, J. C.; Guzmán-Díaz, M.; Rincón-Rabanales, M.; Cruz-López, L. Cephalic and Dufour gland secretions of *Scaptotrigona mexicana* queens: chemical composition and biological activity. **Apidologie**, v. 38, p. 38-46, 2007.

Gorman, J. S. T.; Jones, T. H.; Spande, T. F.; Snelling, R. R.; Torres, J. A.; Garraffo, H. M. 3-Hexyl-5-methylindolizidine isomers from thief ants, *Solenopsis (Diplorhoptrum)* species. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, p. 933-943, 1998.

Gullan, P. J.; Cranston, P. S. **The Insects: an Outline of Entomology**. 1<sup>st</sup> ed. London: Chapman & Hall, 1994.

Harborne, J. B. Twenty-five years of chemical ecology. **Natural Product Reports**, v. 18, p. 361-379, 2001.

Heard, T. A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, v. 44, p. 183-206, 1999.

Hefetz, A. The role of Dufour's gland secretions in bees. **Physiological Entomology**, v. 12, p. 243-253, 1987.

Hoffman, D. R. Ant venoms. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 10, p. 342-346, 2010.

Hoffman, D. R.; Dove, D. E.; Jacobson, R. S. Allergens in Hymenoptera venom. XX. Isolation of four allergens from imported fire ant (*Solenopsis invicta*) venom. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 82, p. 818-827, 1988.

Hoover, S. E. R.; Keeling, C. I.; Winston, M. L.; Slessor, K. N. The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. **Naturwissenschaften**, v. 90, p. 477-480, 2003.

Howard, R. W.; Blomquist, G. J. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. **Annual Review of Entomology**, v. 50, p. 371-393, 2005.

Imperatriz-Fonseca, V. L.; Matos, E. T.; Ferreira, F.; Velthuis, H. H. W. A case of multiple mating in stingless bees (Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v. 45, p. 231-233, 1998.

Imperatriz-Fonseca, V. L.; Zucchi, R. Virgin queens in stingless bee colonies: a review. **Apidologie**, v. 26, p. 231-244, 1995.

Jarau, S.; Dambacher, J.; Twele, R.; Aguilar, I.; Francke, W.; Ayasse, M. The trail pheromone of a stingless bee, *Trigona corvina* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini), varies between populations. **Chemical Senses**, v. 35, p. 593-601, 2010a.

Jarau, S.; Schulz, C. M.; Hrnair, M.; Francke, W.; Zucchi, R.; Barth, F. G.; Ayasse, M. Hexyl decanoate, the first trail pheromone compound identified in a stingless bee, *Trigona recursa*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, p. 1555-1564, 2006.

Jarau, S.; Van Veen, J. W.; Aguilar, I.; Ayasse, M. Virgin queen execution in the stingless bee *Melipona beecheii*: the sign stimulus for worker attacks. **Apidologie**, v. 40, p. 496-507, 2009.

Jarau, S.; Van Veen, J. W.; Twele, R.; Reichle, C.; Gonzales, E. H.; Aguilar, I.; Francke, W.; Ayasse, M. Workers make the queens in *Melipona* bees: identification of geraniol as a caste determining compound from labial glands of nurse bees. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, p. 565-569, 2010b.

Jefford, C. W.; Wang, J. B. An enantiospecific synthesis of solenopsin A. **Tetrahedron Letters**, v. 34, p. 2911-2914, 1993.

Jirovetz, L.; Eller, G.; Buchbauer, G.; Schmidt, E.; Denkova, Z.; Stoyanova, A. S.; Nikolova, R.; Geissler, M. Chemical composition, antimicrobial activities and odor descriptions of some essential oils with characteristic floral-rosy scent and of their principal aroma compounds. **Recent Research Development in Agronomy & Horticulture**, v. 2, p. 1-12, 2006.

Johnson, L. K.; Haynes, L. W.; Carlson, M. A.; Fortnum, H. A.; Gorgas, D. L. Alarm substances of the stingless bee, *Trigona silvestriana*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 11, p. 409-416, 1985.

Jones, T. H.; Blum, M. S.; Fales, H. M. Ant venom alkaloids from *Solenopsis* and *Monomorium* species. **Tetrahedron**, v. 38, p. 1949-1958, 1982.

Jones, T. H.; Blum, M. S.; Fales, H. M.; Thompson, C. R. (5Z,8E)-3-Heptyl-5-methylpyrrolizidine from a thief ant. **Journal of Organic Chemistry**, v. 45, p. 4778-4780, 1980.

Jones, T. H.; Highet, R. J.; Blum, M. S.; Fales, H. M. (5Z, 9Z)-3-Alkyl-5-methylindolizidines from *Solenopsis* (*Diplorhoptrum*) species. **Journal of Chemical Ecology**, v. 10, p. 1233-1249, 1984.

Jones, T. H.; Torres, J. A.; Spande, T. F.; Garraffo, H. M.; Blum, M. S.; Snelling, R. R. Chemistry of venom alkaloids in some *Solenopsis*

(*Diplorhoptum*) species from Puerto Rico. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p. 1221-1236, 1996.

Jungnickel, H.; Costa, A. J. S.; Tentschert, J.; Patricio, E. F. L. R. A.; Imperatriz-Fonseca, V. L.; Drijfhout, F.; Morgan, E. D. Chemical basis for inter-colonial aggression in the stingless bee *Scaptotrigona bipunctata* (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 50, p. 761-766, 2004.

Kabalka, G. W.; Varma, M.; Varma, R. S. J. Tosylation of alcohols. **Journal of Organic Chemistry**, v. 51, p. 2386-2388, 1986.

Kerr, W. E.; Carvalho, G. A.; Nascimento, V. A. **Abelha Uruçu - Biologia, Manejo e Conservação**. Belo Horizonte: Fundação Acangaú, Coleção Manejo da Vida Silvestre, 1996.

Koedam, D.; Aguilar Monge, I.; Sommeijer, M. J. Social interactions of gynes and their longevity in queenright colonies of *Melipona favosa* (Apidae: Meliponinae). **Netherlands Journal of Zoology**, v. 45, p. 480-494, 1995.

Koedam, D.; Jungnickel, H.; Tentschert, J.; Jones, G. R.; Morgan, E. D. Production of wax by virgin queens of the stingless bee *Melipona bicolor* (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v. 49, p. 229-233, 2002.

Krokos, F. D.; Konstantopoulou, M. A.; Mazomenos, B. E. Alkadienes and alkenes, sex pheromone components of the almond seed wasp *Eurytoma amygdali*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, p. 2169-2181, 2001.

Kusch, P.; Knupp, G.; Hergarten, M.; Kozupa, M.; Majchrzak, M. Solid-phase extraction-gas chromatography and solid-phase extraction-gas chromatography–mass spectrometry determination of corrosion inhibiting long-chain primary alkyl amines in chemical treatment of boiler water in water-steam systems of power plants. **Journal of Chromatography A**, v. 1113, p. 198-205, 2006.

Lacerda, L. M.; Simões, Z. L. P. Ovos produzidos por rainhas e operárias de *Scaptotrigona depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponina): morfometria e aspectos relacionados. **Iheringia - Série Zoologia**, v. 96, p. 89-93, 2006.

Leclercq, S.; Braekman, J. C.; Daloze, D. Biosynthesis of the solenopsins, venom alkaloids of the fire ants. **Naturwissenschaften**, v. 83, p. 222-225, 1996.

Leclercq, S.; Thirionet, I.; Broeders, F.; Daloze, D.; Van der Meer, R.; Braekman, J. C. Absolute configuration of the solenopsins, venom alkaloids of the fire ants. **Tetrahedron**, v. 50, p. 8465-8478, 1994.

Leopoldino, M. N.; Freitas, B. M.; Sousa, R. M.; Paulino, F. D. G. Avaliação do feromônio de Nasonov sintético e óleo essencial de capim santo (*Cymbopogon citratus*) como atrativos para enxames de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*). **Ciência Animal**, v. 12, p. 19-23, 2002.

Li, H.; Dong, J.; Chen, W.; Wang, S.; Guo, H.; Man, Y.; Mo, P.; Li, J. Measurement of serum total glycerides and free glycerol by high-performance liquid chromatography. **Journal of Lipid Research**, v. 47, p. 2089-2096, 2006.

Luby, J. M., Regnier, F. E., Clarke, E. T., Weaver, E. C., Weaver, N. Volatile cephalic substances of the stingless bees, *Trigona mexicana* and *Trigona pectoralis*. **Journal of Insect Physiology**, v. 19, p. 1111-1127, 1973.

MacConnell, J. G.; Blum, M. S.; Fales, H. M. The chemistry of fire ant venom. **Tetrahedron**, v. 26, p. 1129-1139, 1971.

Maisonnasse, A.; Alaux, C.; Beslay, D.; Crauser, D.; Gines, C.; Plettner, E.; Le Conte, Y. New insights into honey bee (*Apis mellifera*) pheromone communication. Is the queen mandibular pheromone alone in colony regulation? **Frontiers in Zoology**, v. 7, p. 1-8, 2010.

***Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier**. Disponível em: <[http://www.ib.usp.br/beesp/melipona\\_quadrifasciata\\_anthidioides.htm](http://www.ib.usp.br/beesp/melipona_quadrifasciata_anthidioides.htm)>. Acesso em: 07 de dezembro de 2010.

***Melipona rufiventris* Lepeletier**. Disponível em: <[http://www.ib.usp.br/beesp/melipona\\_rufiventris.htm](http://www.ib.usp.br/beesp/melipona_rufiventris.htm)>. Acesso em: 29 de maio de 2012.

Menezes, C. **A produção de rainhas e a multiplicação de colônias em *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Tese de

Doutorado em Ciências – Área: Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP, Ribeirão Preto-SP, 2010.

Michener, C. D. **The Bees of the World**. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2000.

Monte, F. J. Q.; Oliveira, E. F.; Braz-Filho, R. Triterpenóides pentacíclicos de *Mentha villosa*: identificação estrutural e atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono. **Química Nova**, v. 24, p. 491-500, 2001.

Mori, K. Semiochemicals - synthesis, stereochemistry, and bioactivity. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 1998, p. 1479-1489, 1998.

Mori, K. Significance of chirality in pheromone science. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 7505-7523, 2007.

Neises, B.; Steglich, W. Simple method for the esterification of carboxylic acids. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 17, p. 522-524, 1978.

Newman, M. S. A new method for the esterification of certain sterically hindered acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 63, p. 2431-2435, 1941.

Nogueira-Neto, P. **A Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão (Meliponinae)**. 2<sup>a</sup>. ed. São Paulo: Ed. Chácaras e Quintais, 1970.

Nogueira-Neto, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Ed. Nogueirapis, 1997.

Nunes, T. M.; Mateus, S.; Turatti, I. C.; Morgan, E. D.; Zucchi, R. Nestmate recognition in the stingless bee *Frieseomelitta varia* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): sources of chemical signals. **Animal Behaviour**, v. 81, p. 463-467, 2011.

Nunes, T. M.; Turatti, I. C. C.; Lopes, N. P.; Zucchi, R. Chemical signals in the stingless bee, *Frieseomelitta varia*, indicate caste, gender, age, and reproductive status. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 1172-1180, 2009a.

Nunes, T. M.; Turatti, I. C. C.; Mateus, S.; Nascimento, F. S.; Lopes, N. P.; Zucchi, R. Cuticular hydrocarbons in the stingless bee *Schwarziana quadripunctata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): differences between colonies, castes and age. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, p. 589-595, 2009b.

Obin, M. S. Nestmate recognition cues in laboratory and field colonies of *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae). Effect of environment and role of cuticular hydrocarbons. **Journal of Chemical Ecology**, v. 12, p. 1965-1975, 1986.

Pedder, D. J.; Fales, H. M.; Jaouni, T.; Blum, M.; MacConnell, J.; Crewe, R. M. Constituents of the venom of a south african fire ant (*Solenopsis punctaticeps*) – 2,5-dialkylpyrrolidines and –pyrrolines, identification and synthesis. **Tetrahedron**, v. 32, p. 2275-2279, 1976.

Perin, D. D.; Armarego, W. L. F. E.; Perrin, D. R. **Purification of Laboratory Chemicals**. 2<sup>o</sup> ed. New York: Pergamon Press, 1980.

Peters, J. M.; Queller, D. C.; Imperatriz-Fonseca, V. L.; Roubik, D. W.; Strassmann, J. E. Mate number, kin selection and social conflicts in stingless bees and honeybees. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 266, p. 379-384, 1999.

Pianaro, A. **Ecologia química de abelhas brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides***. Dissertação de Mestrado em Química – Área: Química Orgânica, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas-SP, 2007.

Pianaro, A.; Flach, A.; Patricio, E. F. L. R. A.; Nogueira-Neto, P.; Marsaioli, A. J. Chemical changes associated with the invasion of a *Melipona scutellaris* colony by *Melipona rufiventris* workers. **Journal of Chemical Ecology**, v. 33, p. 971-984, 2007.

Pianaro, A.; Fox, E. G. P.; Bueno, O. C.; Marsaioli, A. J. Rapid configuration analysis of the solenopsins. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 23, p. 635-642, 2012.

Pianaro, A.; Menezes, C.; Kerr, W. E.; Singer, R. B.; Patricio, E. F. L. R. A.; Marsaioli, A. J. Stingless bees: chemical differences and potential functions in *Nannotrigona testaceicornis* and *Plebeia droryana* males and workers. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 1117-1128, 2009.

Piancatelli, G.; Scettri, A.; D'Auria, M. Piridinium chlorochromate: a versatile oxidant in organic synthesis. **Synthesis**, v. 1982, p. 245-258, 1982.

Pitts, J. P.; McHugh, J. V.; Ross, K. G. Cladistic analysis of the fire ants of the *Solenopsis saevissima* species-group (Hymenoptera: Formicidae). **Zoologica Scripta**, v. 34, p. 493-505, 2005.

Poerwono, H.; Higashiyama, K.; Yamauchi, T.; Kubo, H.; Ohmiya, S.; Takahashi, H. Stereocontrolled preparation of *cis*- and *trans*-2,6-dialkylpiperidines via diastereoselective reaction of 1-aza-4-oxabicyclo[4.3.0]nonane derivatives with Grignard reagents. **Tetrahedron**, v. 54, p. 13955-13970, 1998.

Raffa, K. F.; Steffeck, R. J. Computation of response factors for quantitative analysis of monoterpenes by gas-liquid chromatography. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, p. 1385-1390, 1988.

**Rainhas no Favo**. Disponível em: <<http://eco.ib.usp.br/beelab/raindex.htm>>. Acesso em: 06 de outubro de 2010.

Rajeswara Rao, B. R.; Kaul, P. N.; Syamasundar, K. V.; Ramesh, S. Chemical profiles of primary and secondary essential oils of palmarosa (*Cymbopogon martini* (Roxb.) Wats var. *motia* Burk.). **Industrial Crops and Products**, v. 21, p. 121-127, 2005.

Rana, V. S.; Juyal, J. P.; Blazquez, M. A. Chemical constituents of essential oil of *Pelargonium graveolens* leaves. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 12, p. 216-218, 2002.

Regnier, F. E.; Law, J. H. Insect pheromones. **Journal of Lipid Research**, v. 9, p. 541-551, 1968.

Roselino, A. C.; Santos, S. B.; Hrcir, M.; Bego, L. R. Differences between the quality of strawberries (*Fragaria x ananassa*) pollinated by the stingless bees *Scaptotrigona* aff. *depilis* and *Nannotrigona testaceicornis*. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, p. 539-545, 2009.

Roubik, D. W. Stingless bee nesting biology. **Apidologie**, v. 37, p. 124-143, 2006.

Roubik, D. W. **Ecology and Natural History of Tropical Bees**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989.

Sakagami, S. F.; Laroca, S. Additional observations on the habits of the cleptobiotic stingless bees, the genus *Lestrimelitta* Friese (Hymenoptera, Apoidea). **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University**, v. 15, p. 319-339, 1953.

Santos, S. A. B.; Roselino, A. C.; Bego, L. R. Pollination of cucumber, *Cucumis sativus* L. (Cucurbitales: Cucurbitaceae), by the stingless bees *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure and *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses. **Neotropical Entomology**, v. 37, p. 506-512, 2008.

Santos, S. A. B.; Roselino, A. C.; Hrncir, M.; Bego, L. R. Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Genetics and Molecular Research**, v. 8, p. 751-757, 2009.

Sarah, C. Silkworms and samurai: how butterflies shaped modern science in Japan. Disponível em: <<http://butterfliesandscience.wordpress.com/2011/07/09/silkworms-and-samurai-how-butterflies-shaped-science-in-japan/>>. Acesso em: 12 de março de 2012.

Sbarbati, A.; Osculati, F. Allelochemical communication in vertebrates: kairomones, allomones and synomones. **Cells Tissues Organs**, v. 183, p. 206-219, 2006.

Schorkopf, D. L.; Jarau, S.; Francke, W.; Twele, R.; Zucchi, R.; Hrncir, M.; Schmidt, V. M.; Ayasse, M.; Barth, F. G. Spitting out information: *Trigona* bees deposit saliva to signal resource locations. **Proceeding of the Royal Society B**, v. 274, p. 895-898, 2007.

Schultz, T. R. In search of ant ancestors. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 97, p. 14028-14029, 2000.

Shani, A. Integrated pest management using pheromones. **Chemtech**, v. 28, p. 30-35, 1998.

Silva, D. L. N.; Zucchi, R.; Kerr, W. E. Biological and behavioural aspects of the reproduction in some species of *Melipona* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Animal Behaviour**, v. 20, p. 123-132, 1972.

Silveira, F. A.; Melo, G. A. R.; Almeida, E. A. B. **Abelhas brasileiras – sistemática e identificação**. 1ª. Ed. Belo Horizonte: Fernando A. Silveira, 2002.

Singer, T. L. Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. **American Zoologist**, v. 38, p. 394-405, 1998.

Slaa, E. J.; Sánchez Chaves, L. A.; Malagodi-Braga, K. S.; Hofstede, F. E. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **Apidologie**, v. 37, p. 293-315, 2006.

Skvortsov, I. M. Advances in the study of the stereochemistry of quinolizidines, indolizidines, and pyrrolizidines. **Russian Chemical Reviews**, v. 48, p. 481-519, 1979.

Stangler, E. S.; Jarau, S.; Hrcir, M.; Zucchi, R.; Ayasse, M. Identification of trail pheromone compounds from the labial glands of the stingless bee *Geotrigona mombuca*. **Chemoecology**, v. 19, p. 13-19, 2009.

Tarpy, D. R.; Gilley, D. C. Group decision making during queen production in colonies of highly eusocial bees. **Apidologie**, v. 35, p. 207-216, 2004.

Torres, J. A.; Zottig, V. E.; Co, J. E.; Jones, T. H.; Snelling, R. R. Caste specific alkaloid chemistry of *Solenopsis maboya* and *Solenopsis torresi* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 37, p. 579-583, 2001.

Touchstone, J. C.; Dobbins, M. F. **Practice of Thin Layer Chromatography**. New York: John Wiley & Sons, 1978.

Van den Dool, H.; Kratz, P. D. J. A generalization of retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.

Vander Meer, R. K.; Saliwanchik, D.; Lavine, B. Temporal changes in colony cuticular hydrocarbons patterns of *Solenopsis invicta*. Implications for nestmate recognition. **Journal of Chemical Ecology**, v. 15, p. 2115-2125, 1989.

Van Veen, J. W.; Sommeijer, M. J. Observations on gynes and drones around nuptial flights in the stingless bees *Tetragonisca angustula* and *Melipona beecheii* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Apidologie**, v. 31, p. 47-54, 2000.

Van Veen, J. W.; Sommeijer, M. J.; Aguilar Monge, I. Behavioural development and abdomen inflation of gynes and newly mated queens of *Melipona beecheii* (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v. 46, p. 361-365, 1999.

Vargo, E. L. Poison gland of queen fire ants (*Solenopsis invicta*) is the source of a primer pheromone. **Naturwissenschaften**, v. 84, p. 507-510, 1997.

Verdugo-Dardon, M.; Cruz-López, L.; Malo, E. A.; Rojas, J. C.; Guzman-Diaz, M. Olfactory attraction of *Scaptotrigona mexicana* drones to their virgin queen volatiles. **Apidologie**, v. 42, p. 543-550, 2011.

Vincenti, M.; Guglielmetti, G.; Cassani, G.; Tonini, C. Determination of double bond position in diunsaturated compounds by mass spectrometry of dimethyl disulfide derivatives. **Analytical Chemistry**, v. 59, p. 694-699, 1987.

Vogel, A. I. **Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry**. 5<sup>th</sup> Edition. London: Longman Scientific & Technical, 1989.

Ward, P. S. Phylogeny, classification, and species-level taxonomy of ants (Hymenoptera: Formicidae). **Zootaxa**, v. 1668, p. 549-563, 2007.

Wenseleers, T.; Hart, A. G.; Ratnieks, F. L. W.; Quezada-Euán, J. J. G. Queen execution and caste conflict in the stingless bee *Melipona beecheii*. **Ethology**, v. 110, p. 725-736, 2004.

Wyatt, T. D. **Pheromones and Animal Behavior – Communication by Smell and Taste**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.



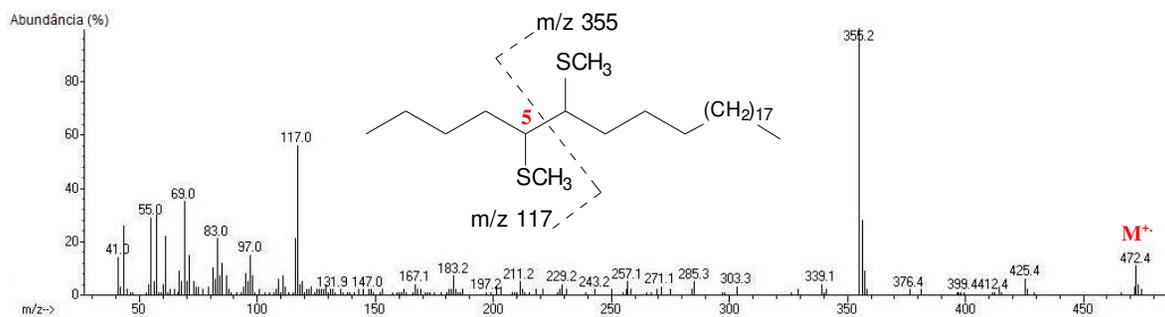
---

# **ANEXOS**

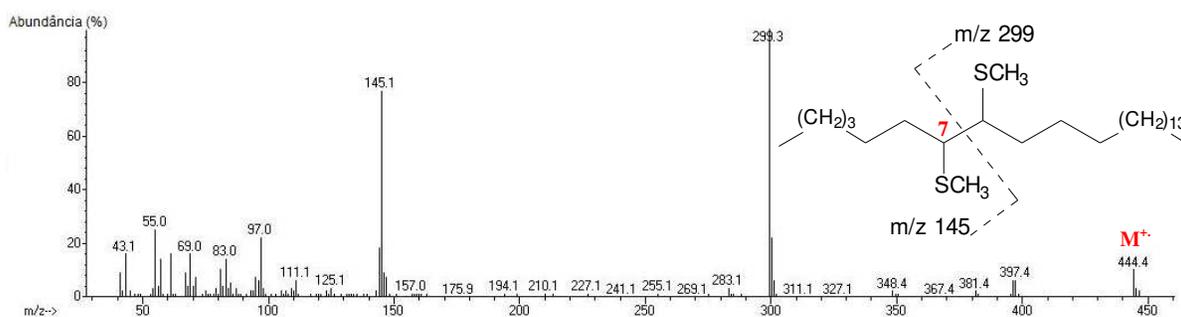
---



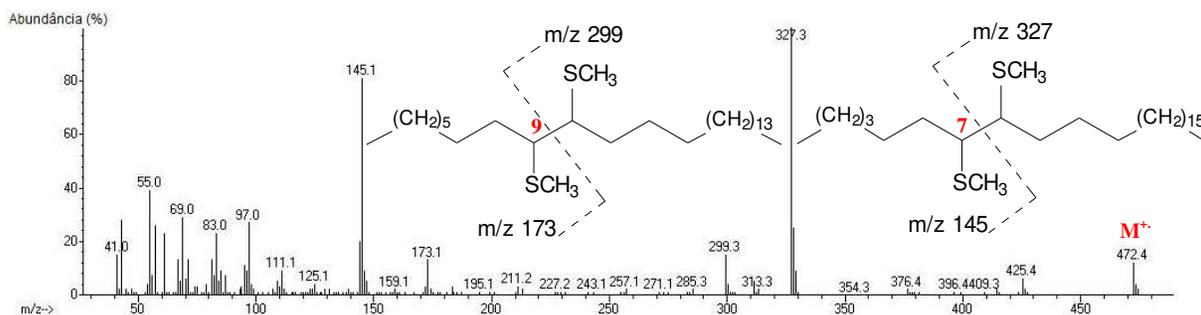
## 10. Anexos



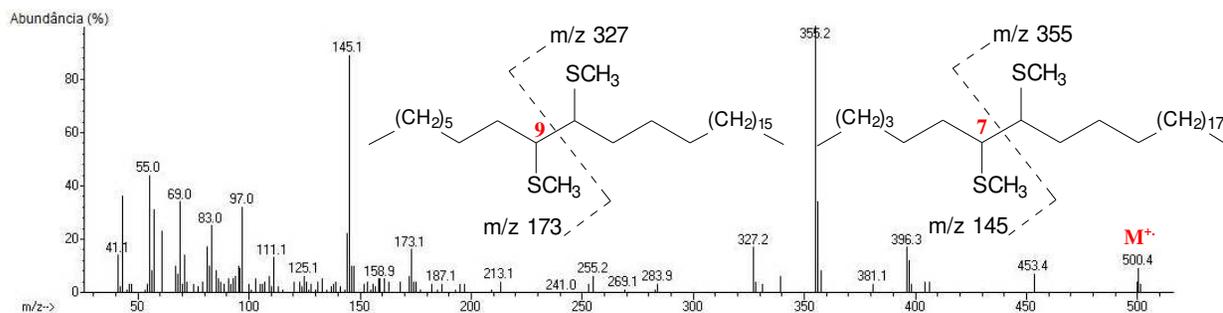
**Figura A1.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 5-heptacoseno.



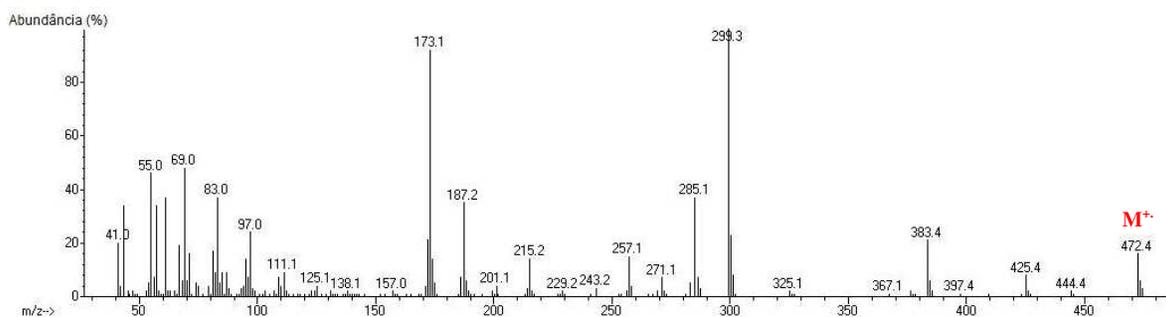
**Figura A2.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 7-pentacoseno.



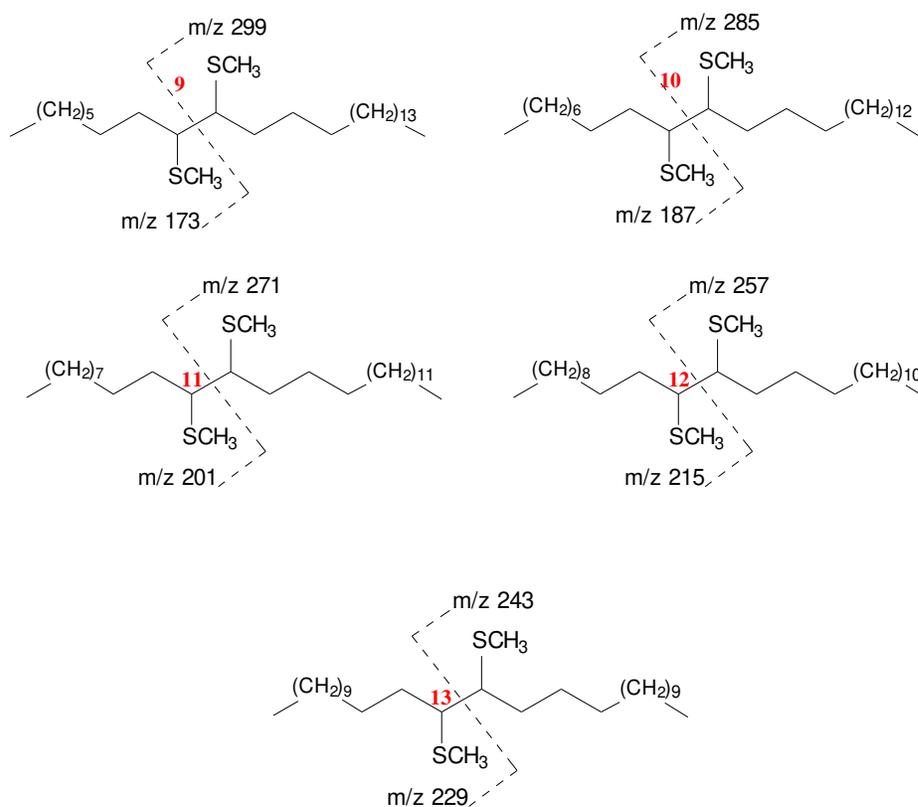
**Figura A3.** Espectro de massas (70 eV) da co-eluição dos derivados DMDS do 7-heptacoseno e do 9-heptacoseno (mesmo íon molecular  $M^+$ : 472).

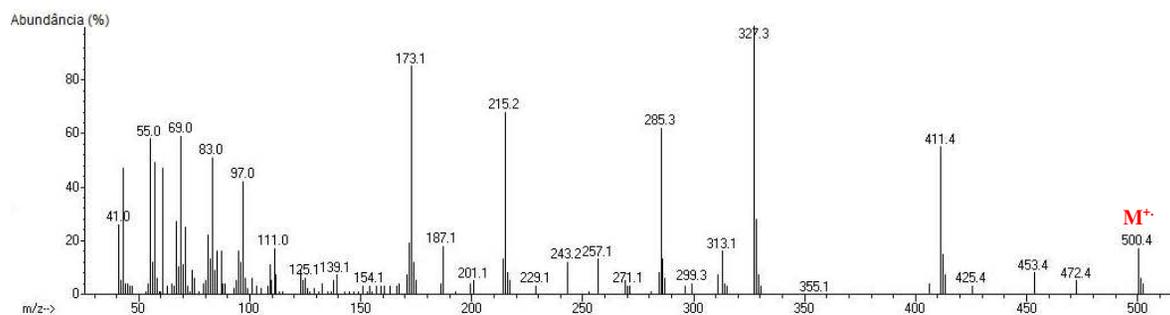


**Figura A4.** Espectro de massas (70 eV) da co-eluição dos derivados DMDS do 7-nonacoseno e do 9-nonacoseno (mesmo íon molecular  $M^+$ : 500).

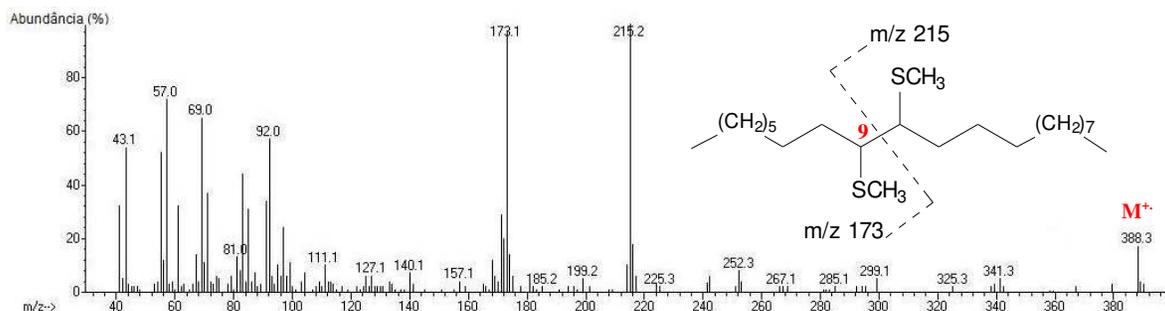
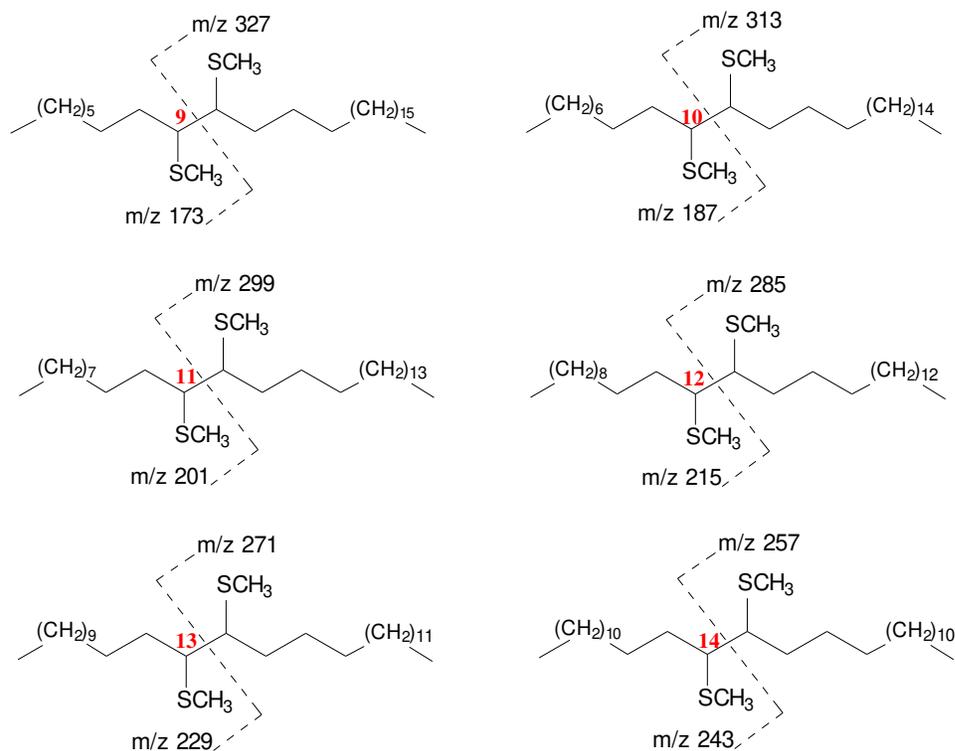


**Figura A5.** Espectro de massas (70 eV) da co-eluição dos derivados DMDS do 9-heptacoseno, 10-heptacoseno, 11-heptacoseno, 12-heptacoseno e 13-heptacoseno (mesmo íon molecular  $M^+$  472).

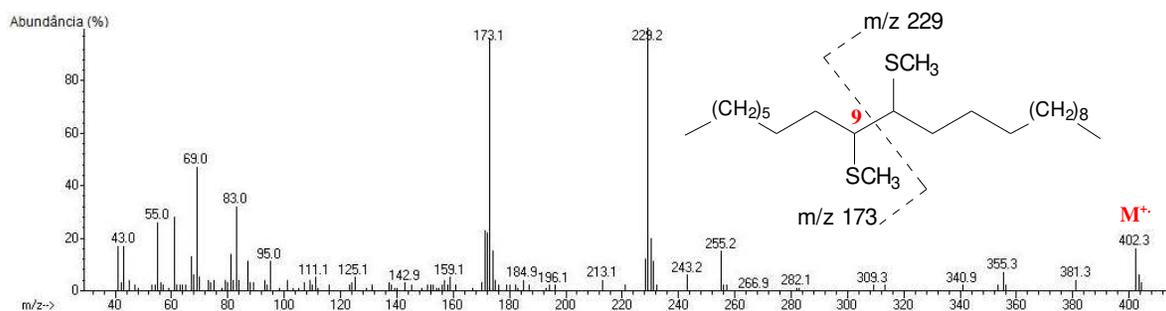




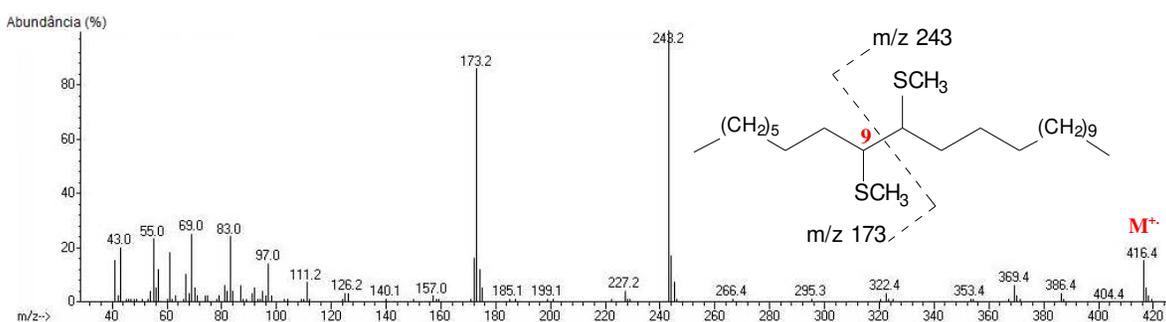
**Figura A6.** Espectro de massas (70 eV) da co-eluição dos derivados DMDS do 9-nonacoseno, 10-nonacoseno, 11-nonacoseno, 12-nonacoseno, 13-nonacoseno e 14-nonacoseno (mesmo íon molecular  $M^+$  500).



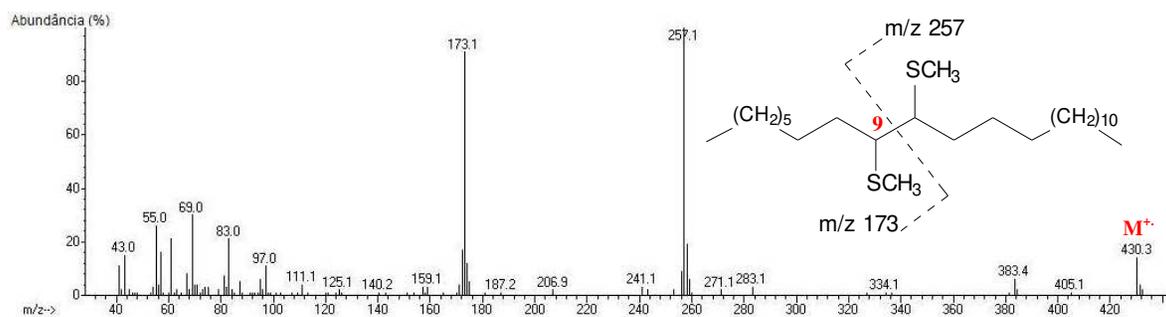
**Figura A7.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-heneicoseno.



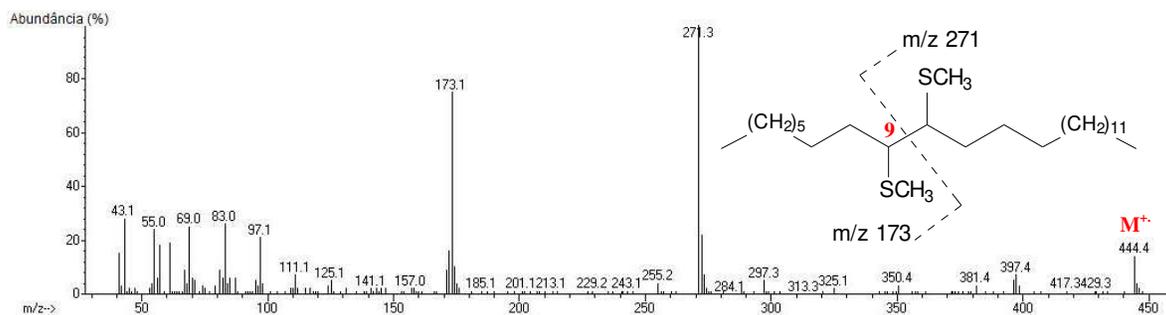
**Figura A8.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-docoseno.



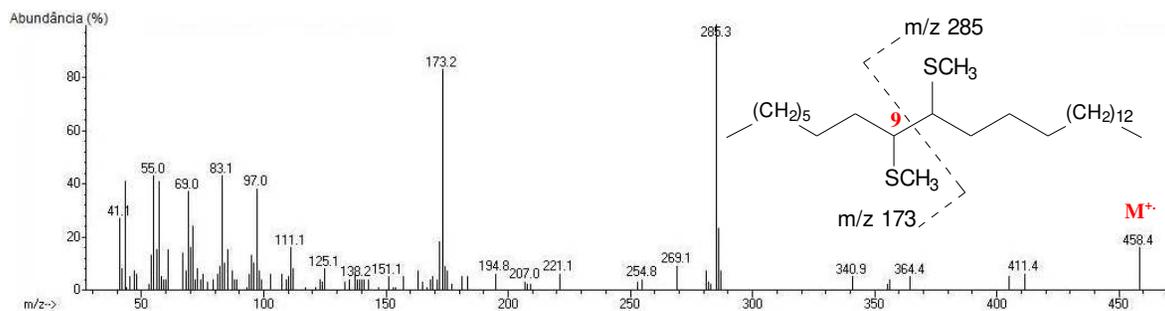
**Figura A9.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-tricoseno.



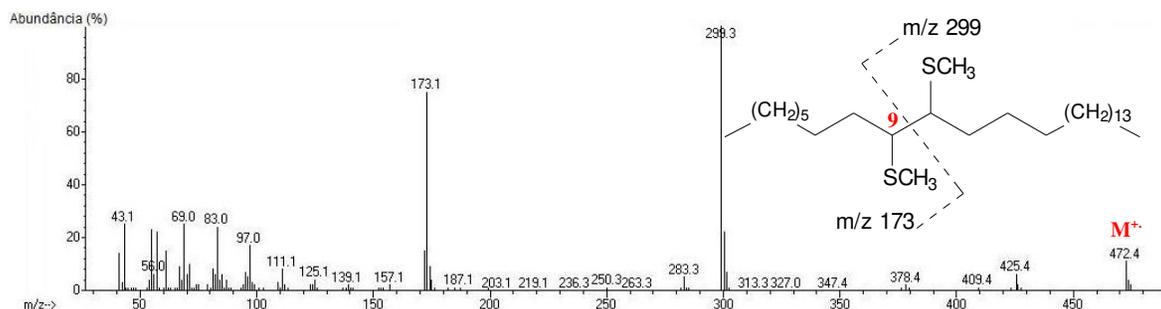
**Figura A10.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-tetracoseno.



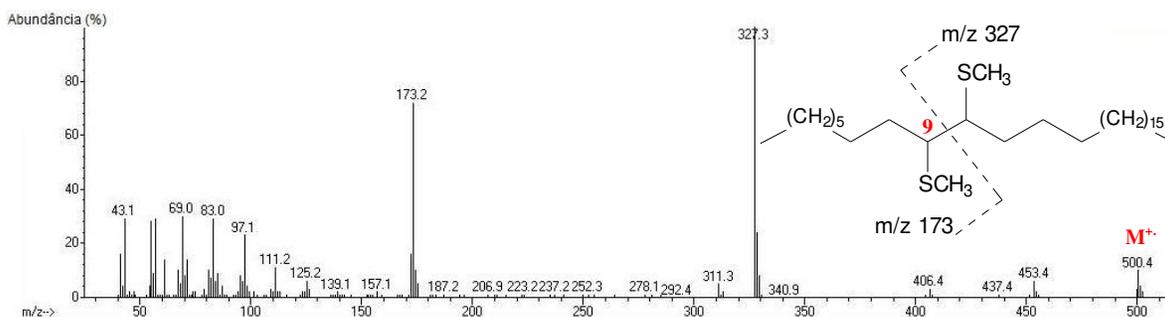
**Figura A11.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-pentacoseno.



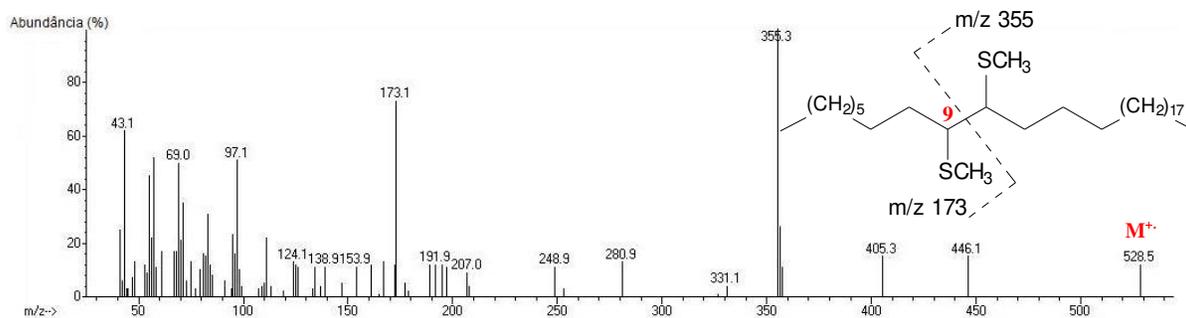
**Figura A12.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-hexacoseno.



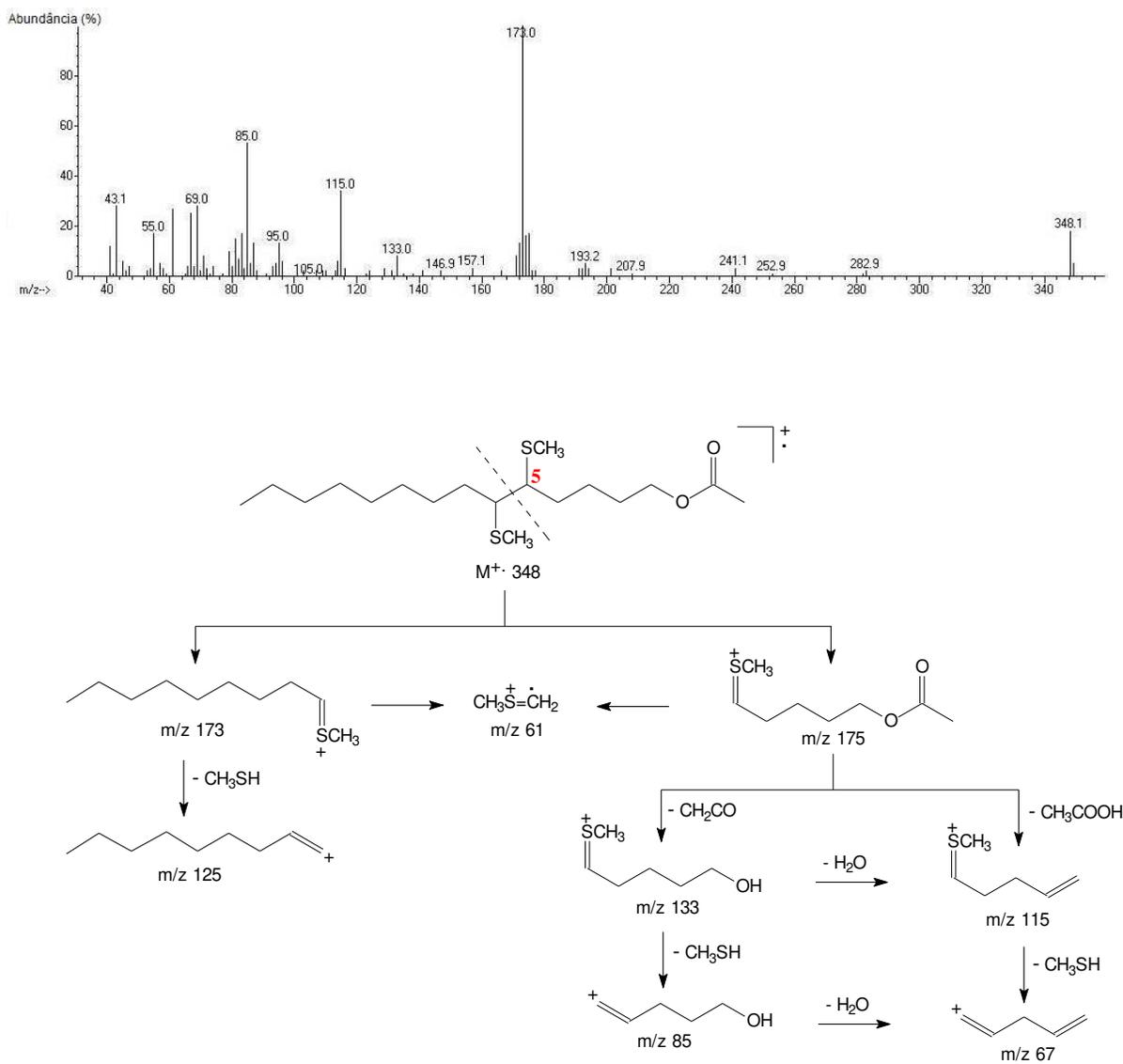
**Figura A13.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-heptacoseno.



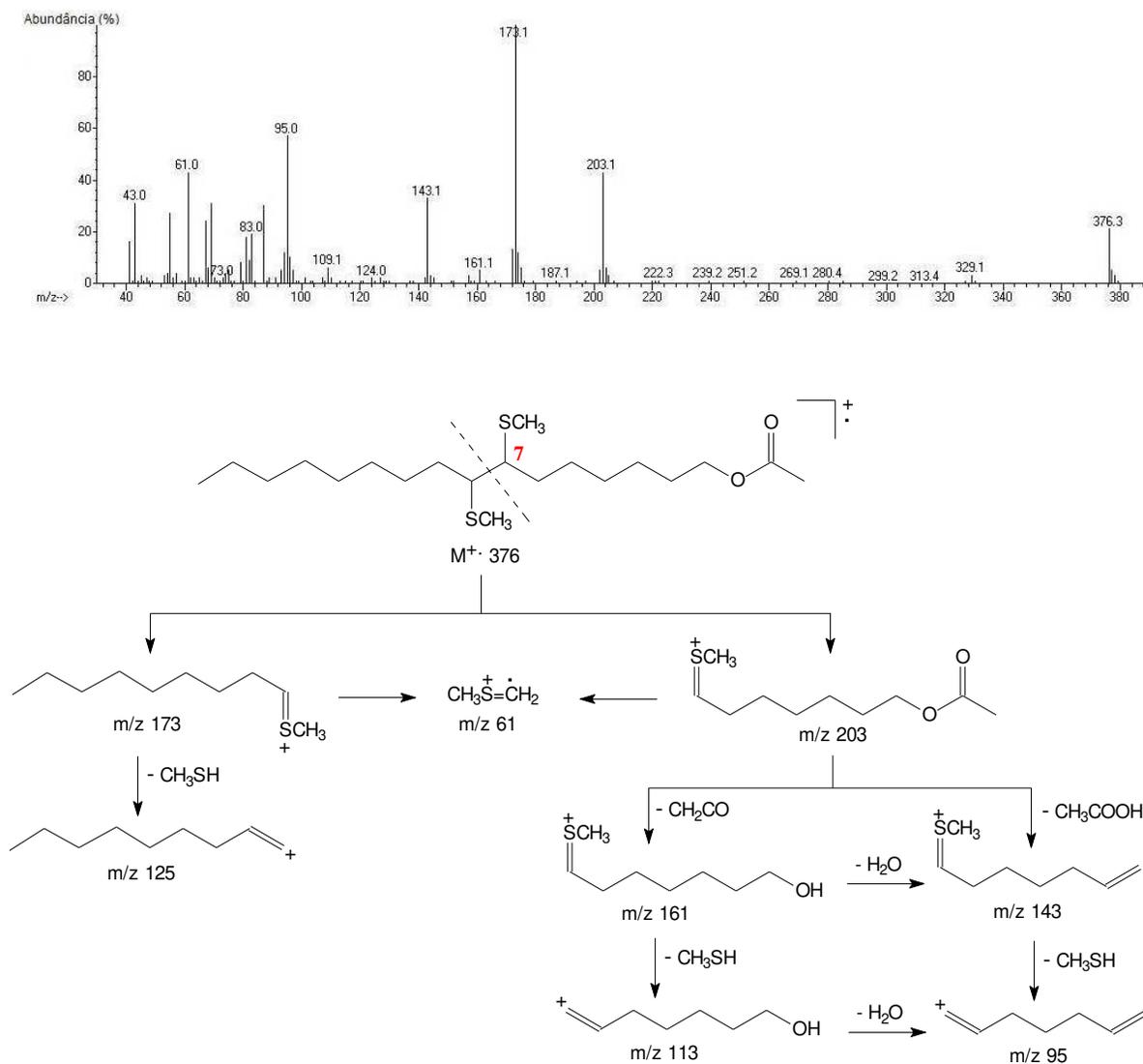
**Figura A14.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-nonacoseno.



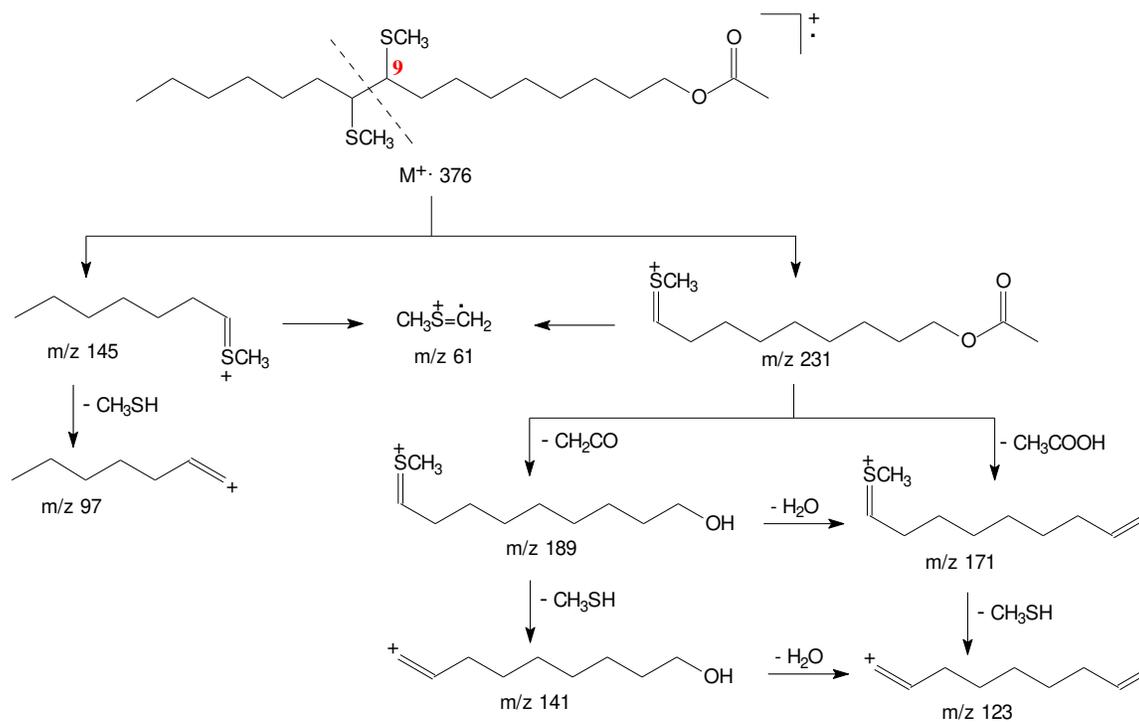
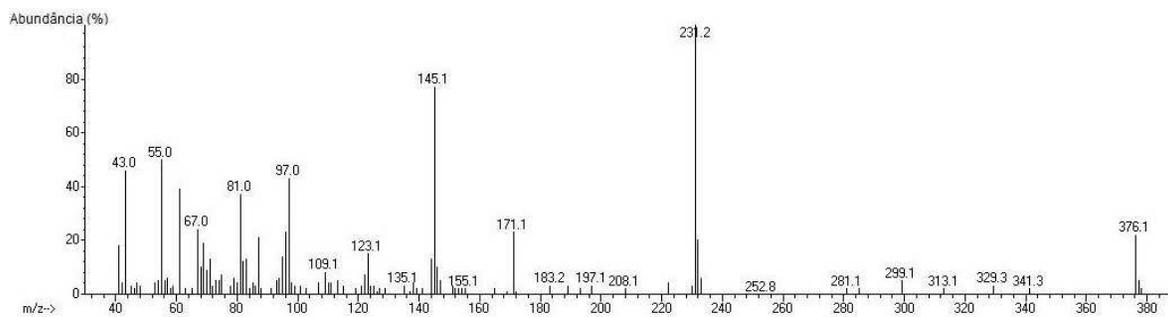
**Figura A15.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do 9-hentriaconteno.



**Figura A16.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do acetato de 5-tetradecenila e as fragmentações propostas de acordo com Buser *et al.*, 1983.



**Figura A17.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do acetato de 7-hexadecenila e as fragmentações propostas de acordo com Buser *et al.*, 1983.



**Figura A18.** Espectro de massas (70 eV) do derivado DMDS do acetato de 9-hexadecenila e as fragmentações propostas de acordo com Buser *et al.*, 1983.

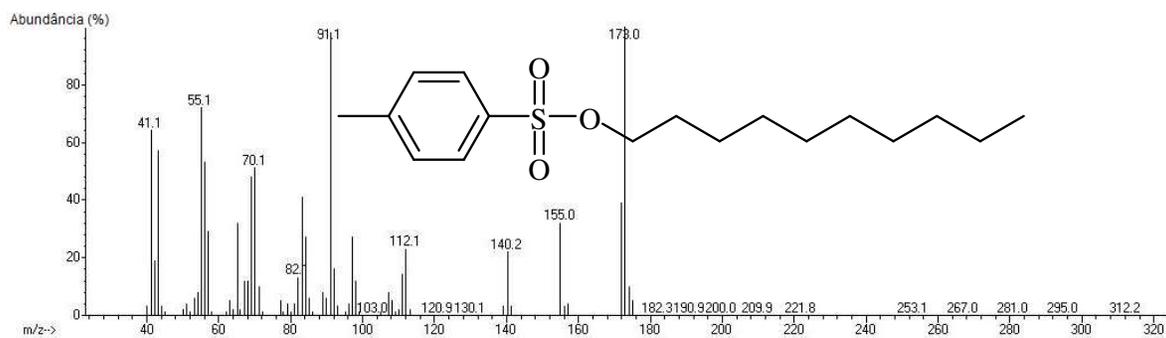


Figura A19. Espectro de massas (70 eV) do tosilato de decila.

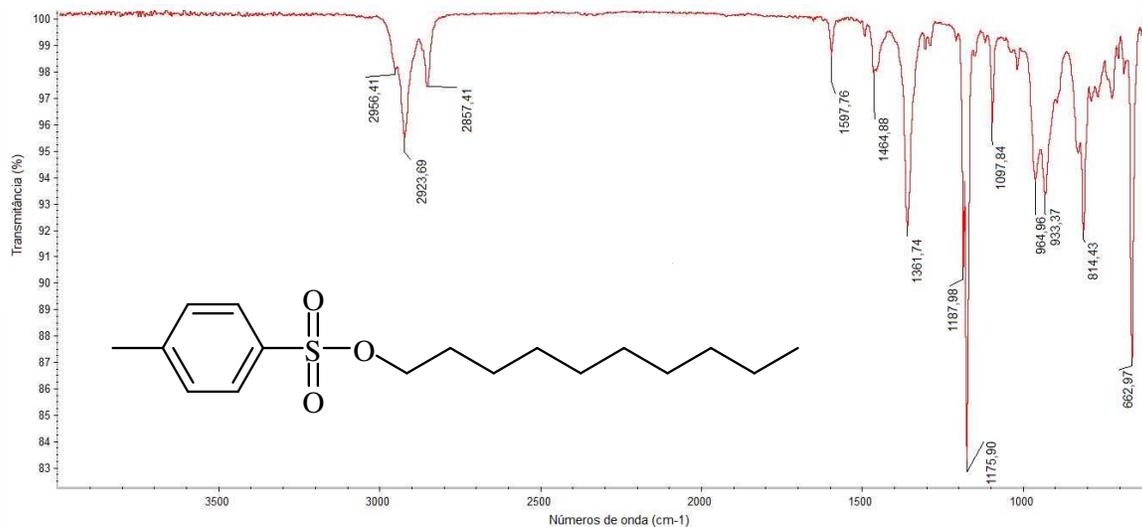


Figura A20. Espectro no infravermelho do tosilato de decila.

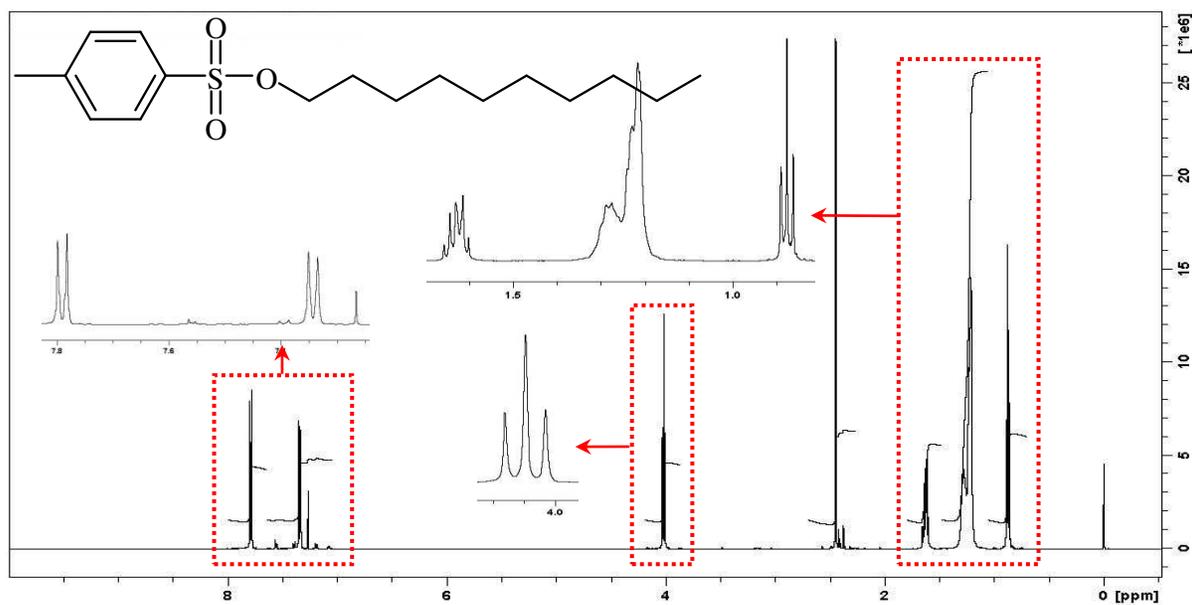
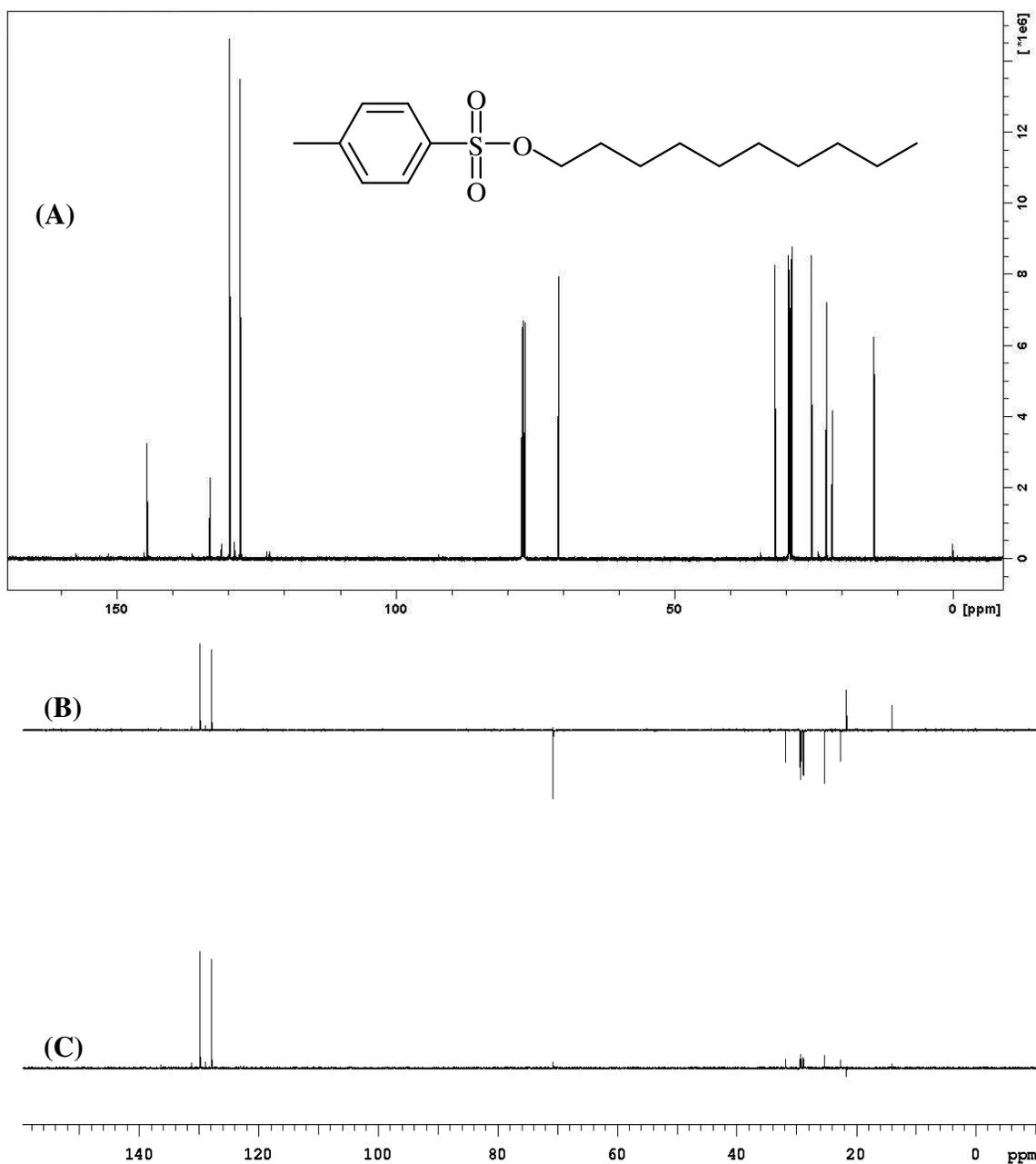
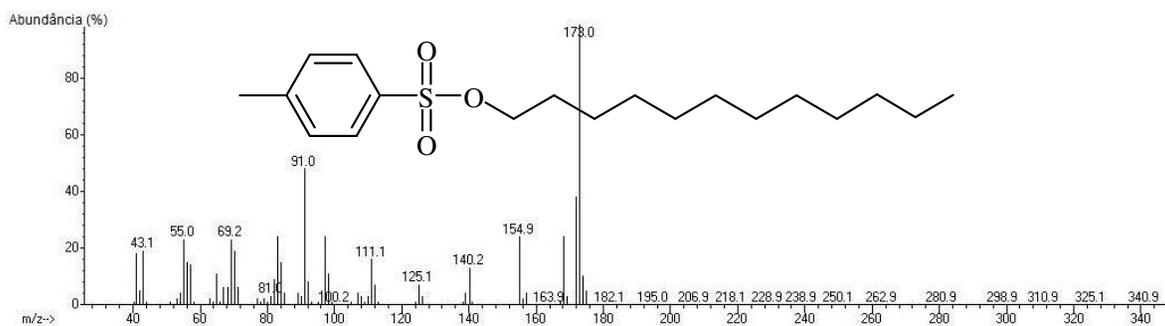


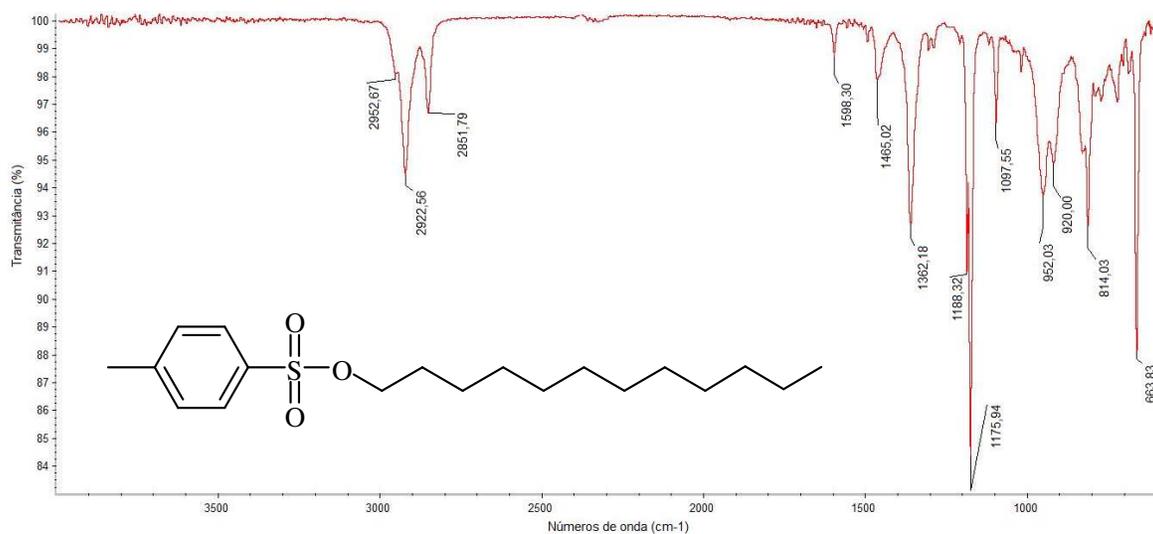
Figura A21. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (499,88 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) do tosilato de decila.



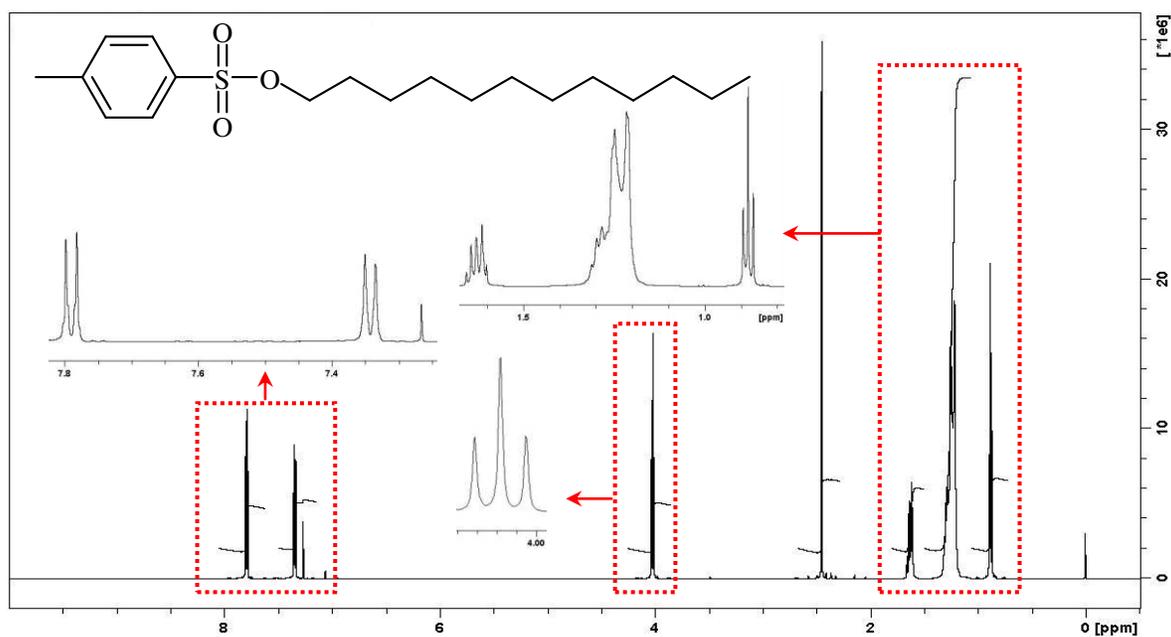
**Figura A22.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125,71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de decila: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



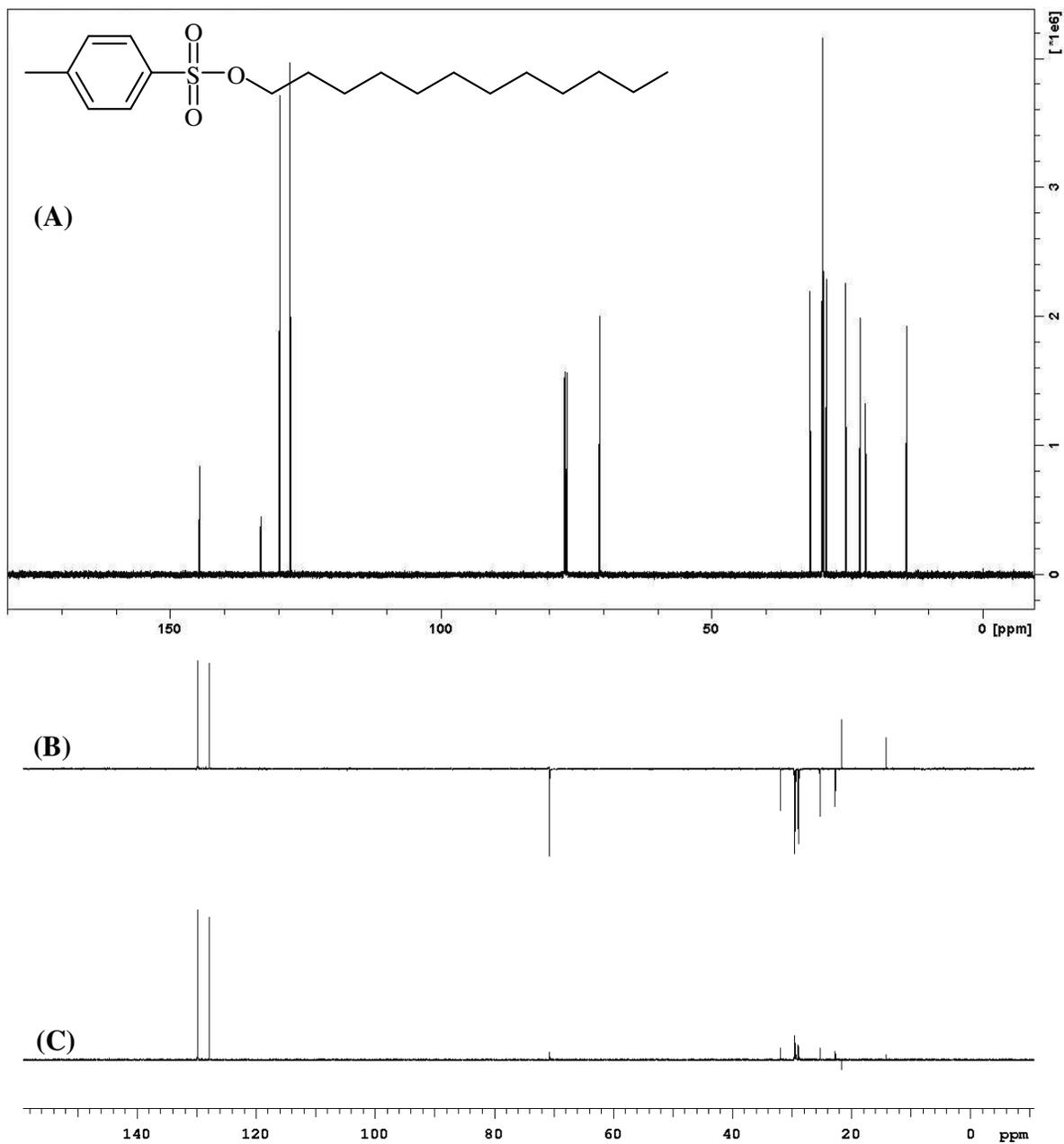
**Figura A23.** Espectro de massas (70 eV) do tosilato de dodecila.



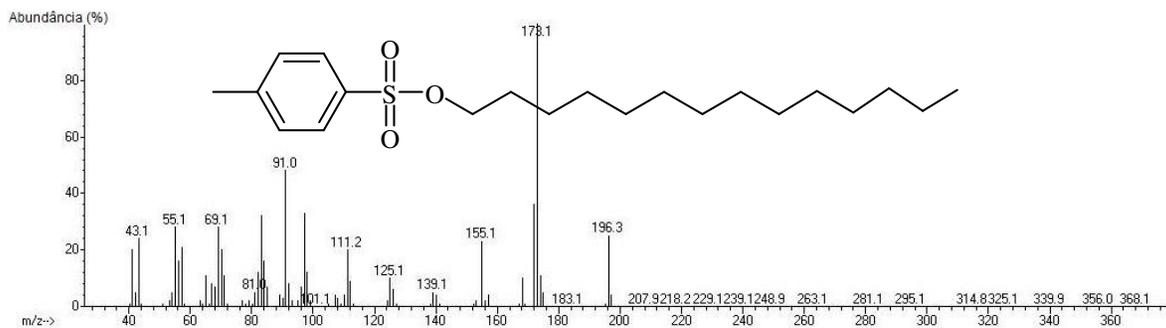
**Figura A24.** Espectro no infravermelho do tosilato de dodecila.



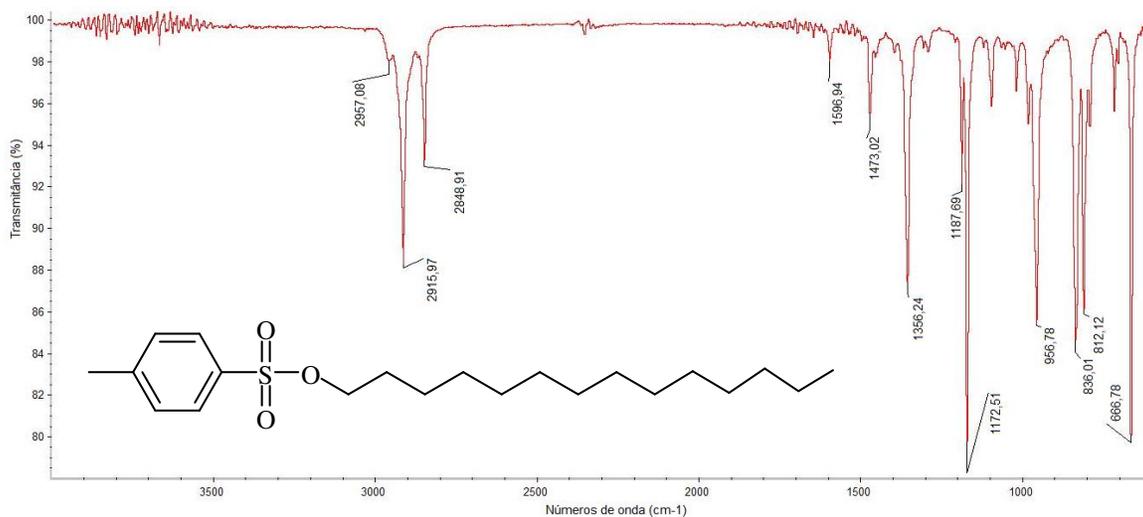
**Figura A25.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (499,88 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de dodecila.



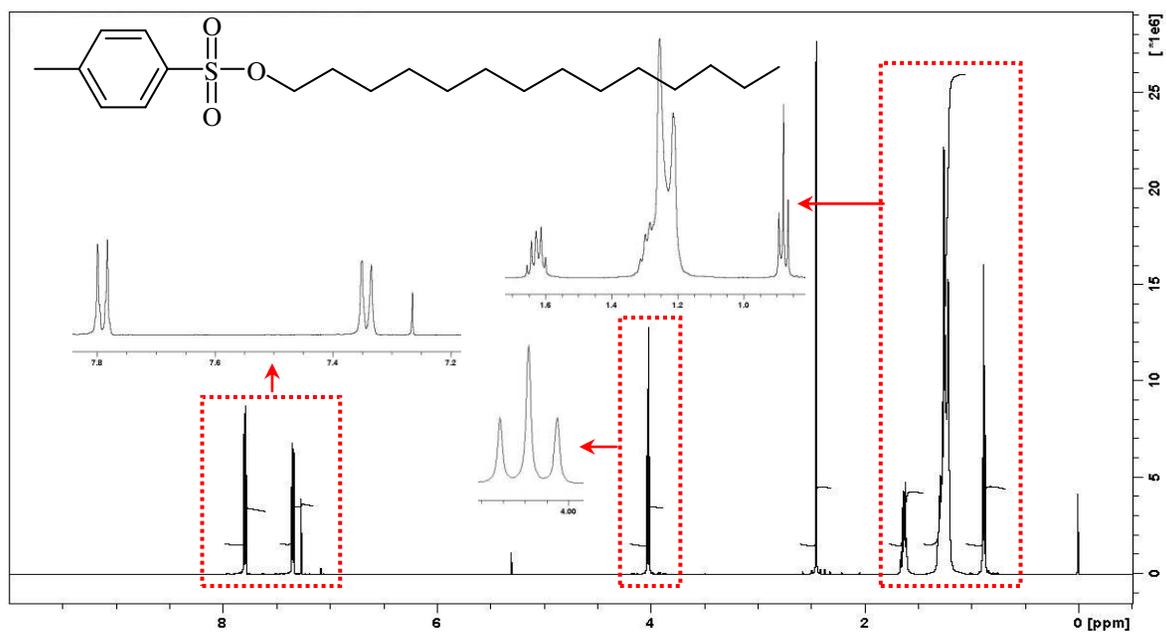
**Figura A26.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125,71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de dodecila: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



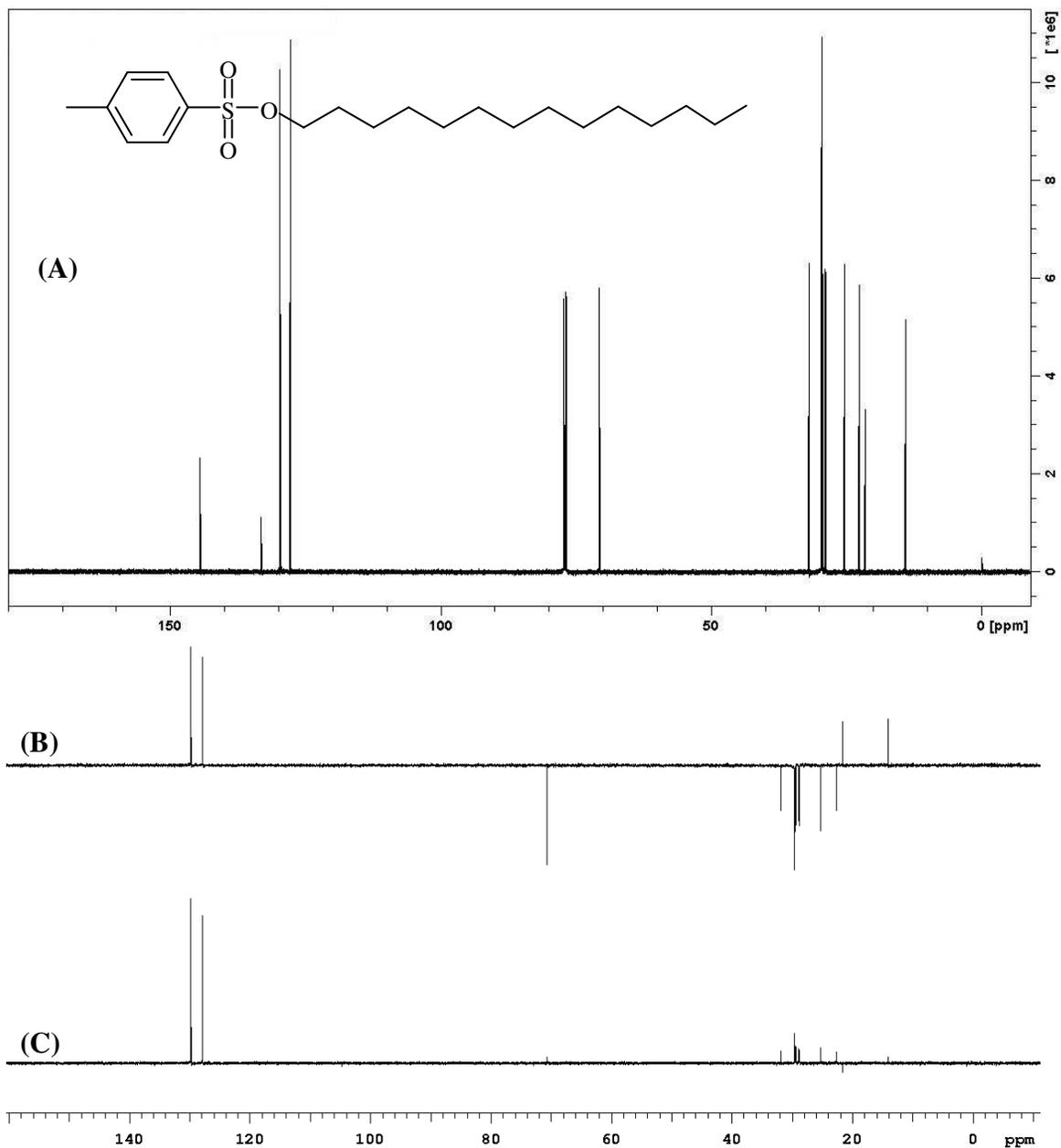
**Figura A27.** Espectro de massas (70 eV) do tosilato de tetradecila.



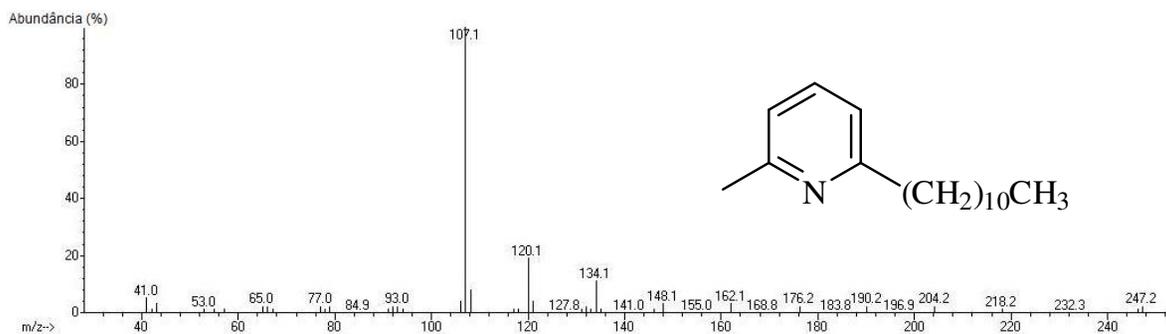
**Figura A28.** Espectro no infravermelho do tosilato de tetradecila.



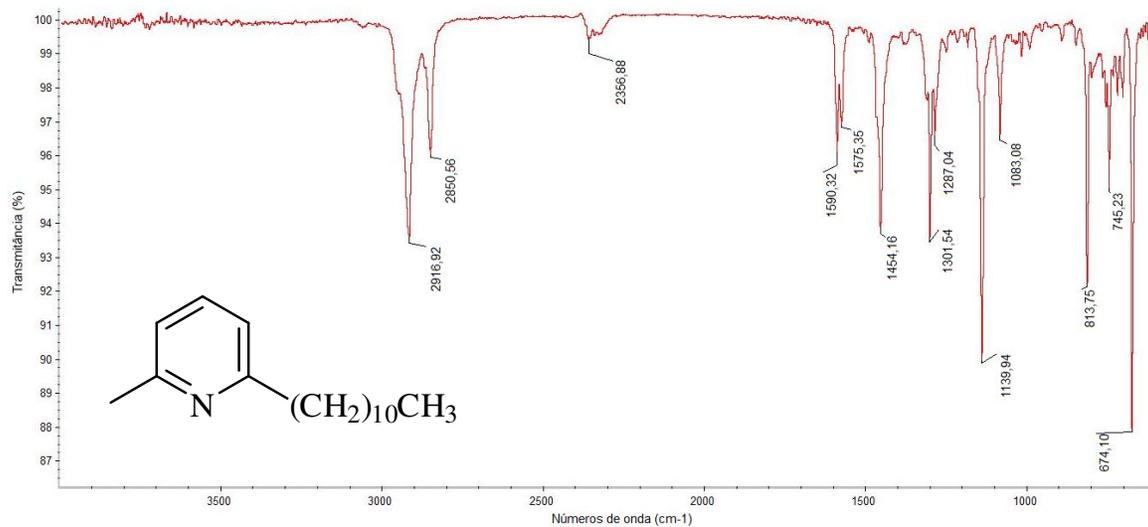
**Figura A29.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (499,88 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de tetradecila.



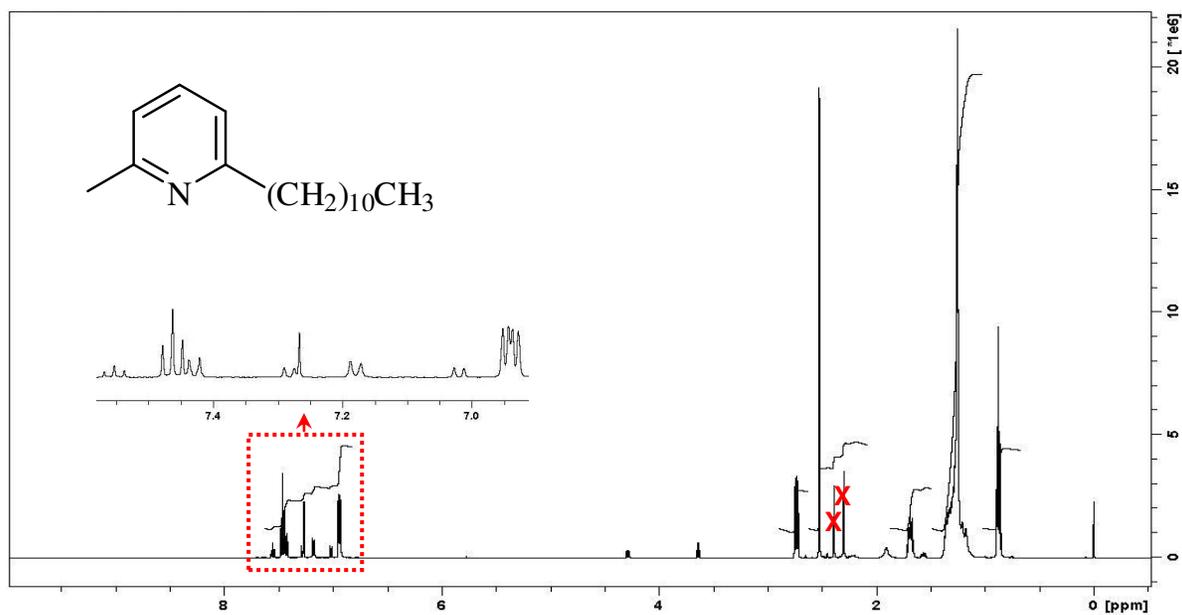
**Figura A30.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125,71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) do tosilato de tetradecila: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



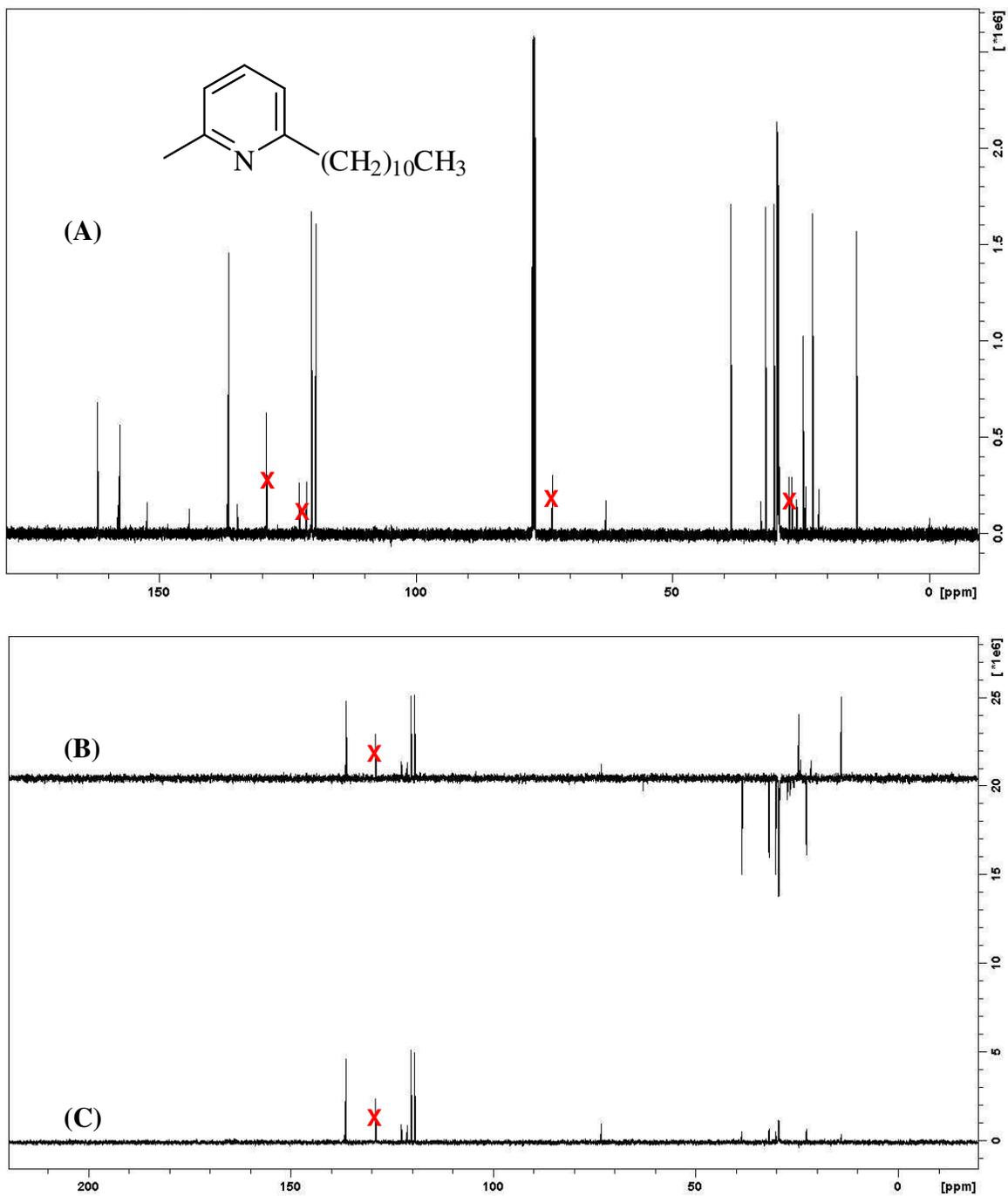
**Figura A31.** Espectro de massas (70 eV) da 2-metil-6-undecilpiridina.



**Figura A32.** Espectro no infravermelho da 2-metil-6-undecilpiridina.



**Figura A33.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (499,88 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-undecilpiridina.



**Figura A34.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (62,89 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-undecilpiridina: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.

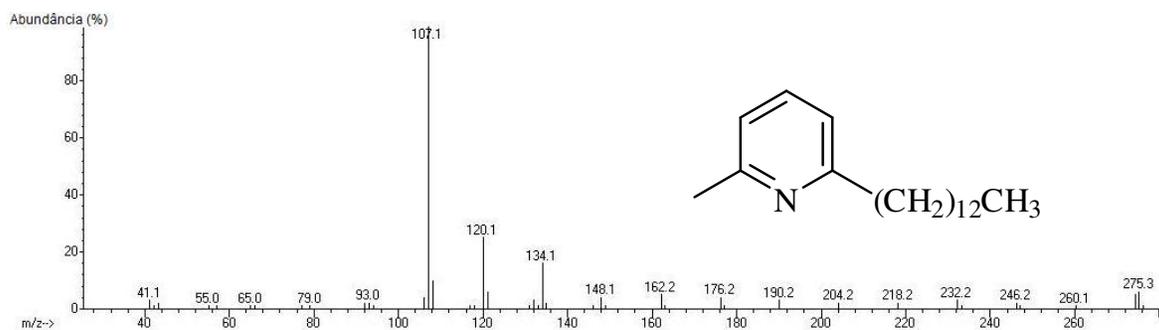


Figura A35. Espectro de massas (70 eV) da 2-metil-6-tridecilpiridina.

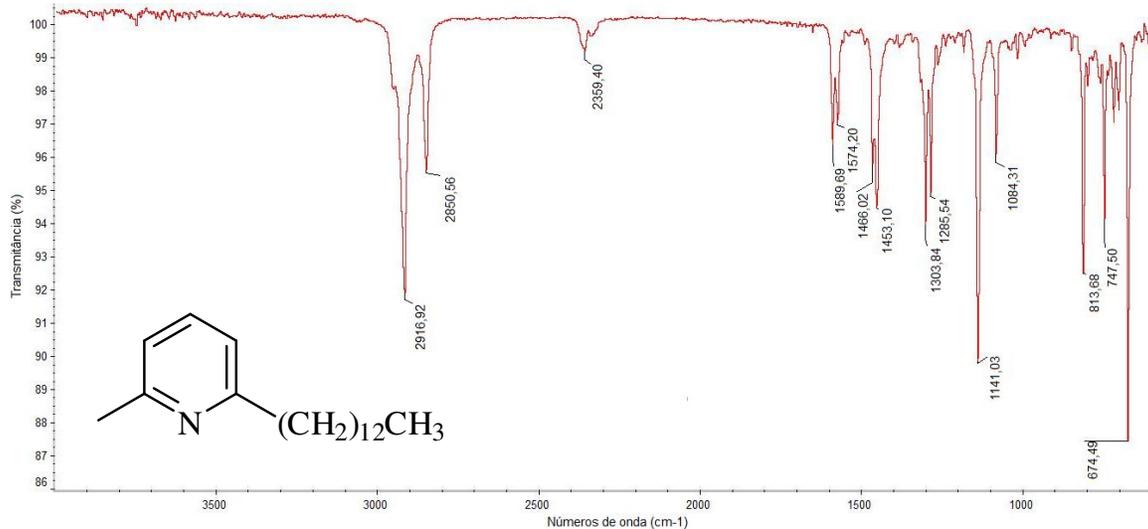


Figura A36. Espectro no infravermelho da 2-metil-6-tridecilpiridina.

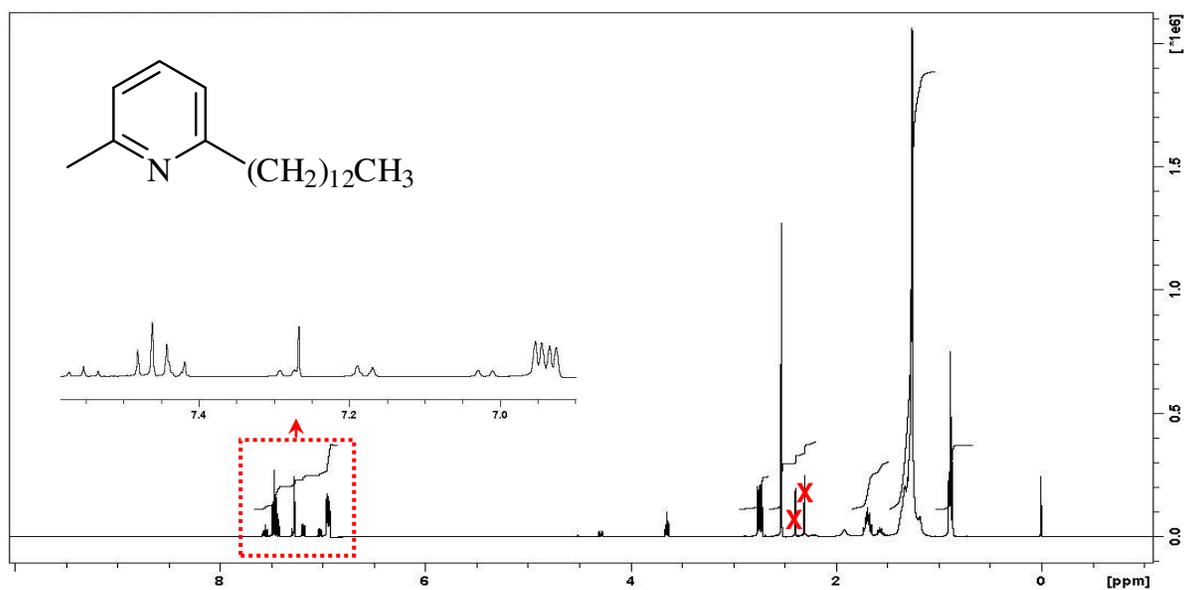
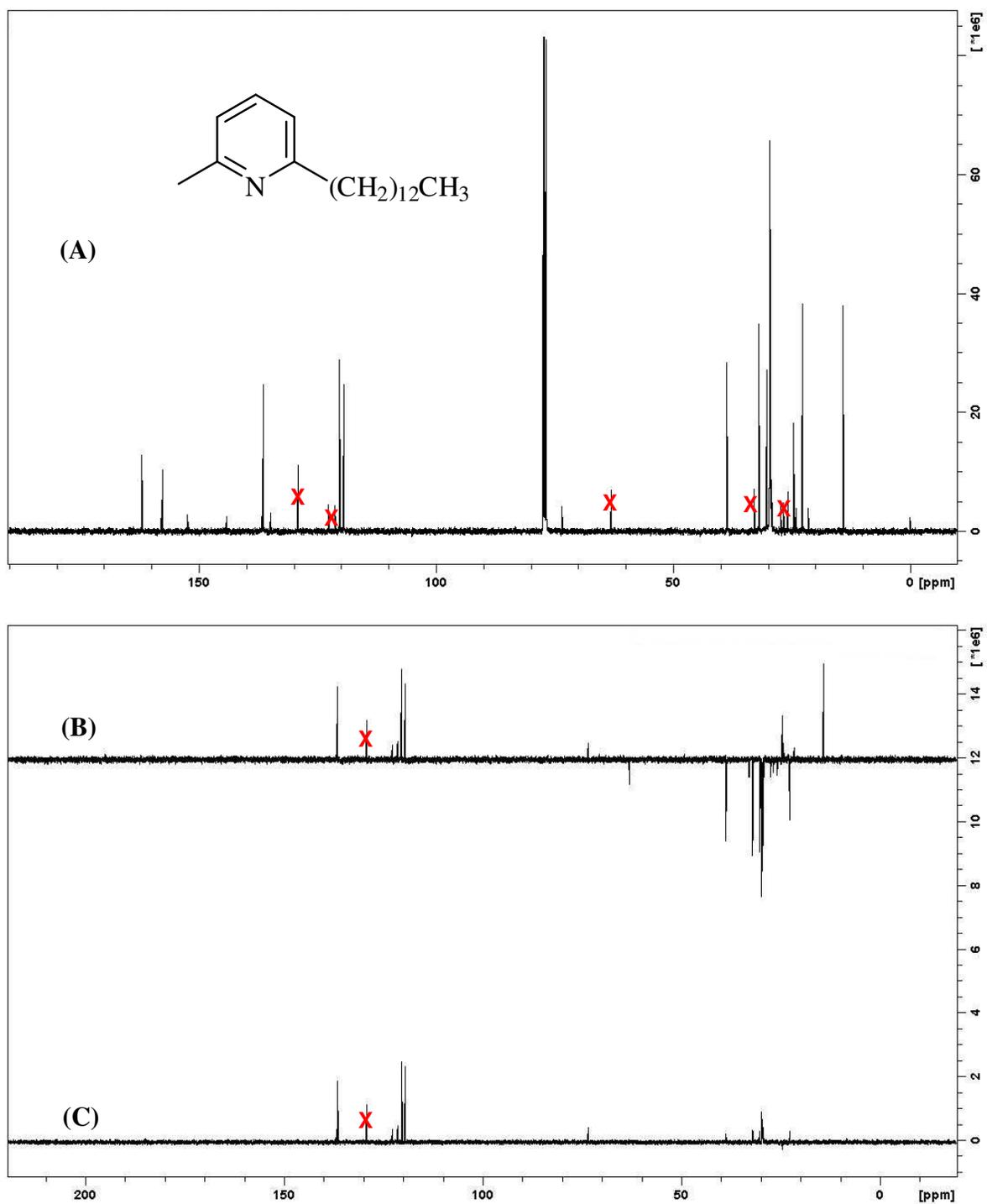
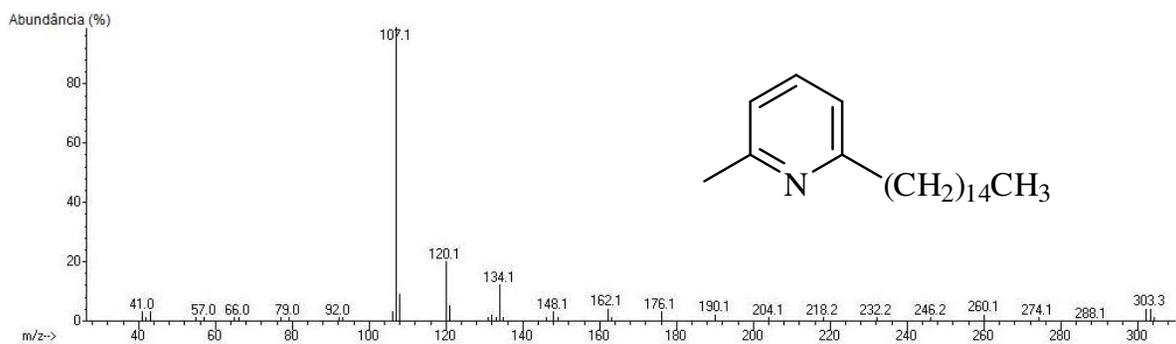


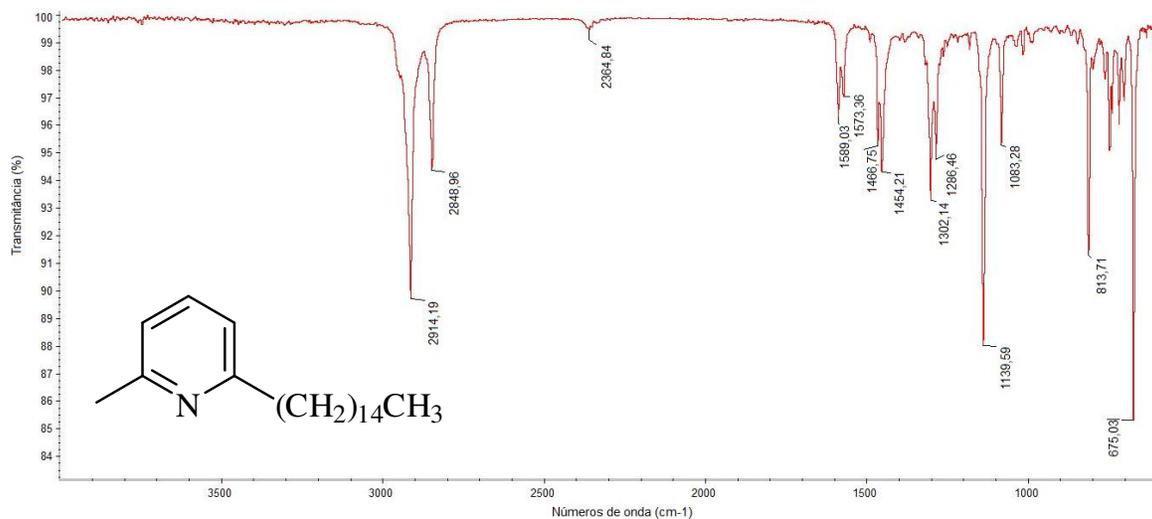
Figura A37. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-tridecilpiridina.



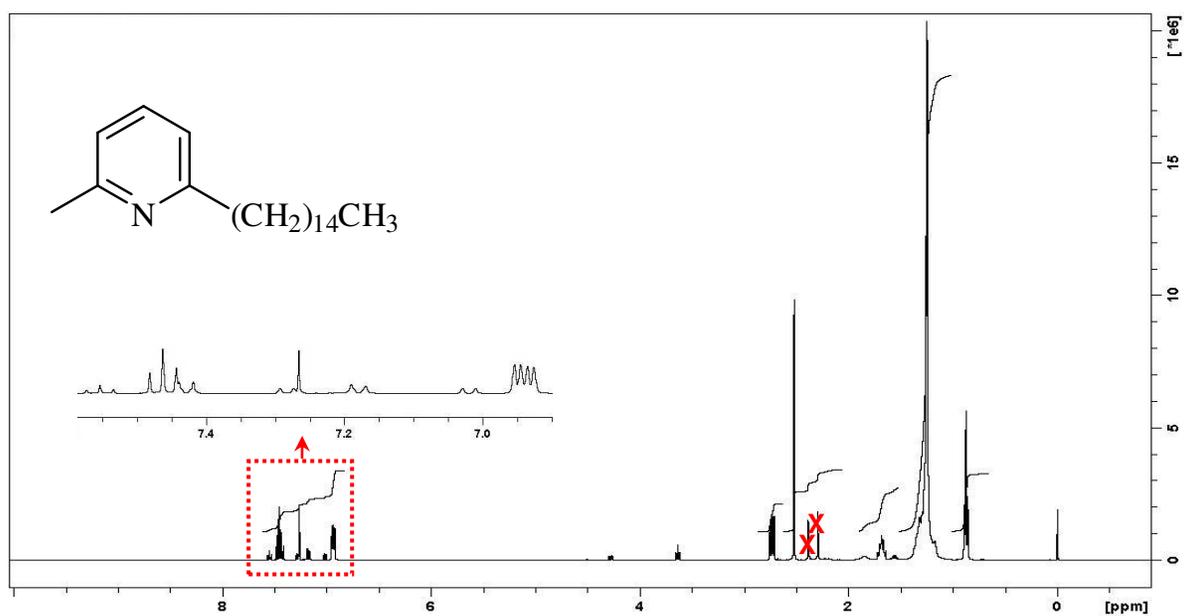
**Figura A38.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100,61 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-tridecilpiridina: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



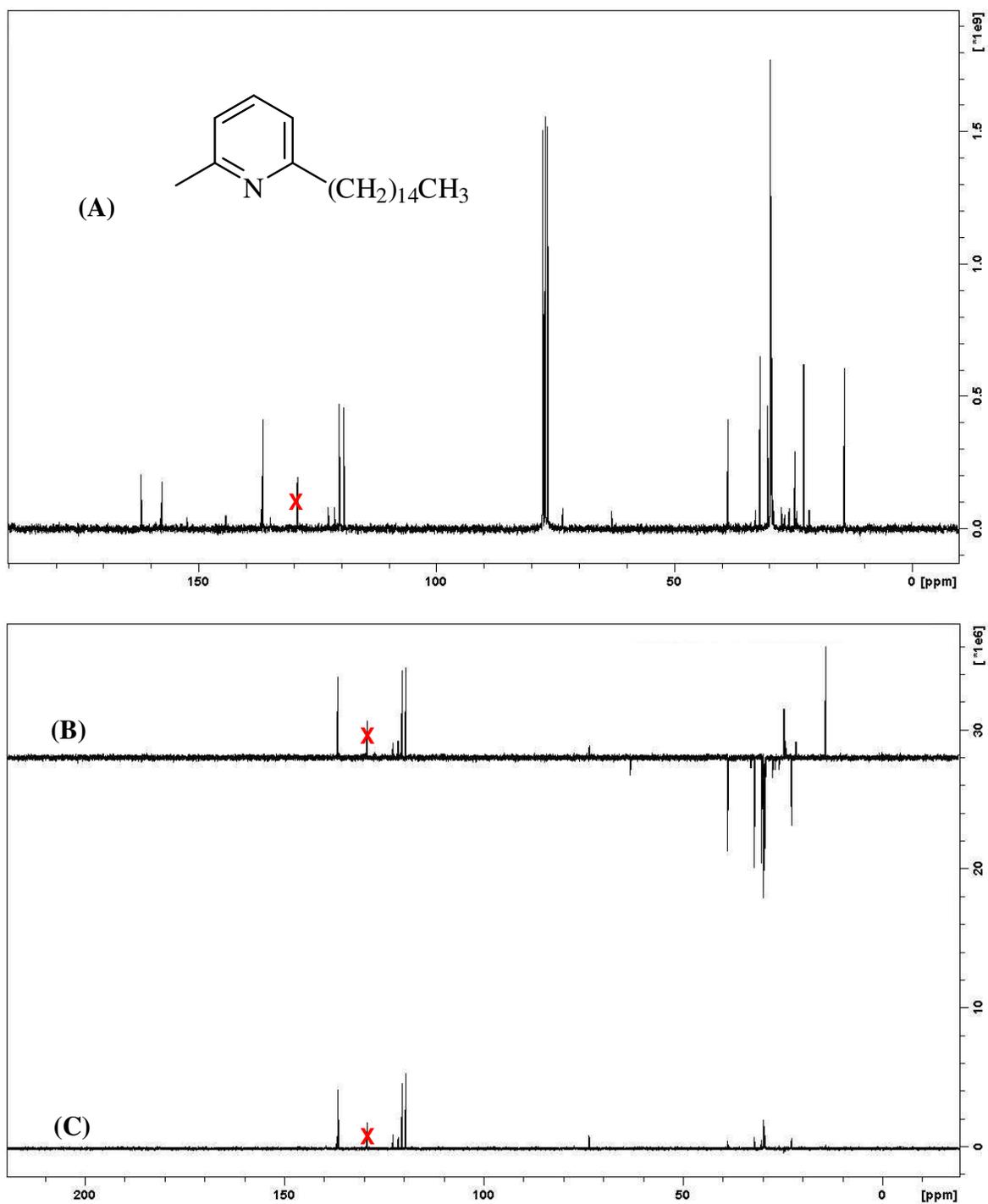
**Figura A39.** Espectro de massas (70 eV) da 2-metil-6-pentadecilpiridina.



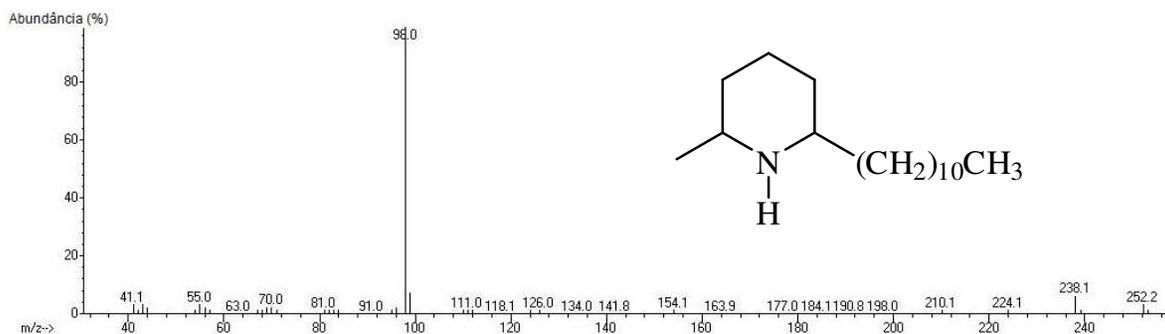
**Figura A40.** Espectro no infravermelho da 2-metil-6-pentadecilpiridina.



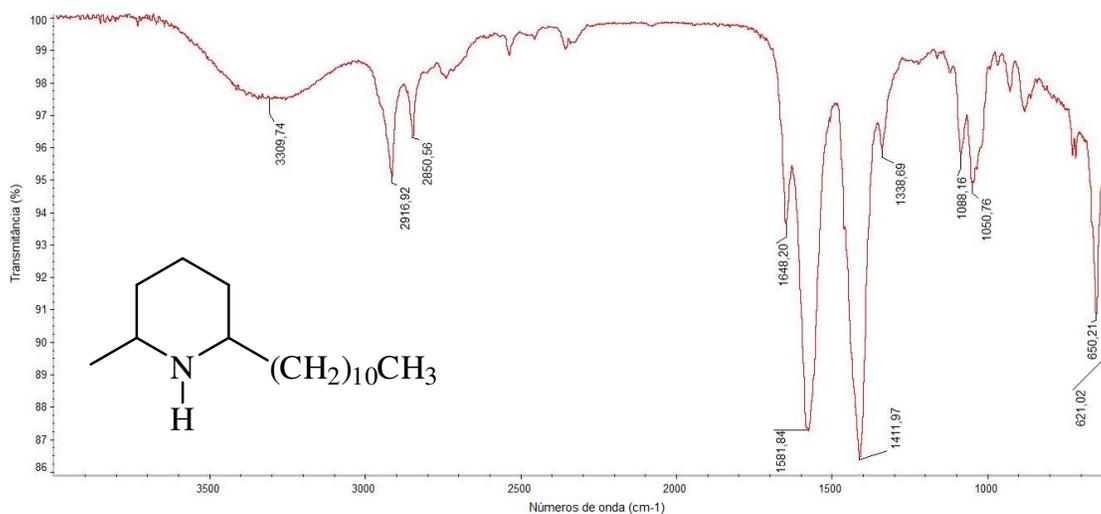
**Figura A41.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-pentadecilpiridina.



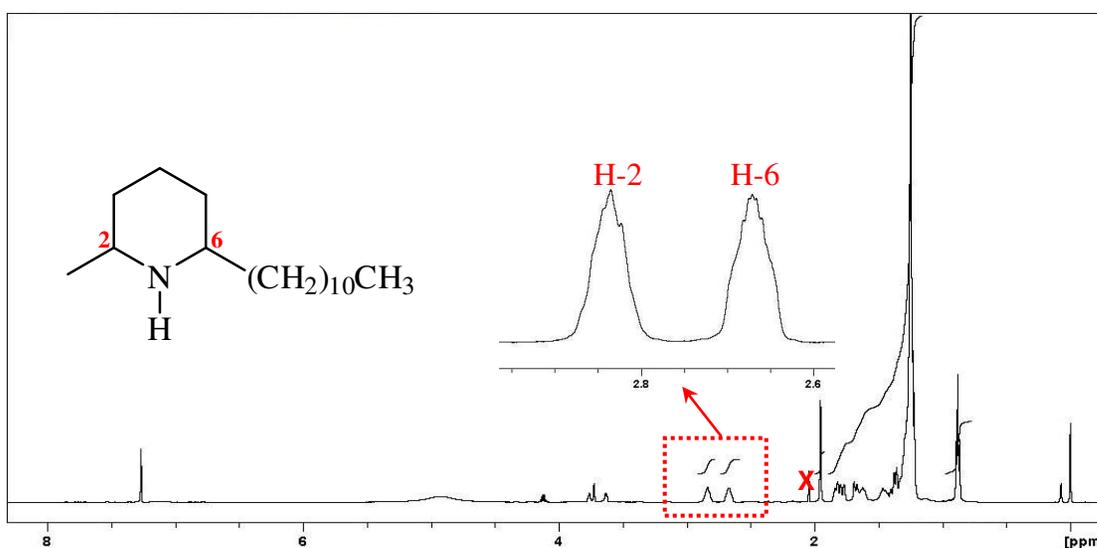
**Figura A42.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100,61 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da 2-metil-6-pentadecilpiridina: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



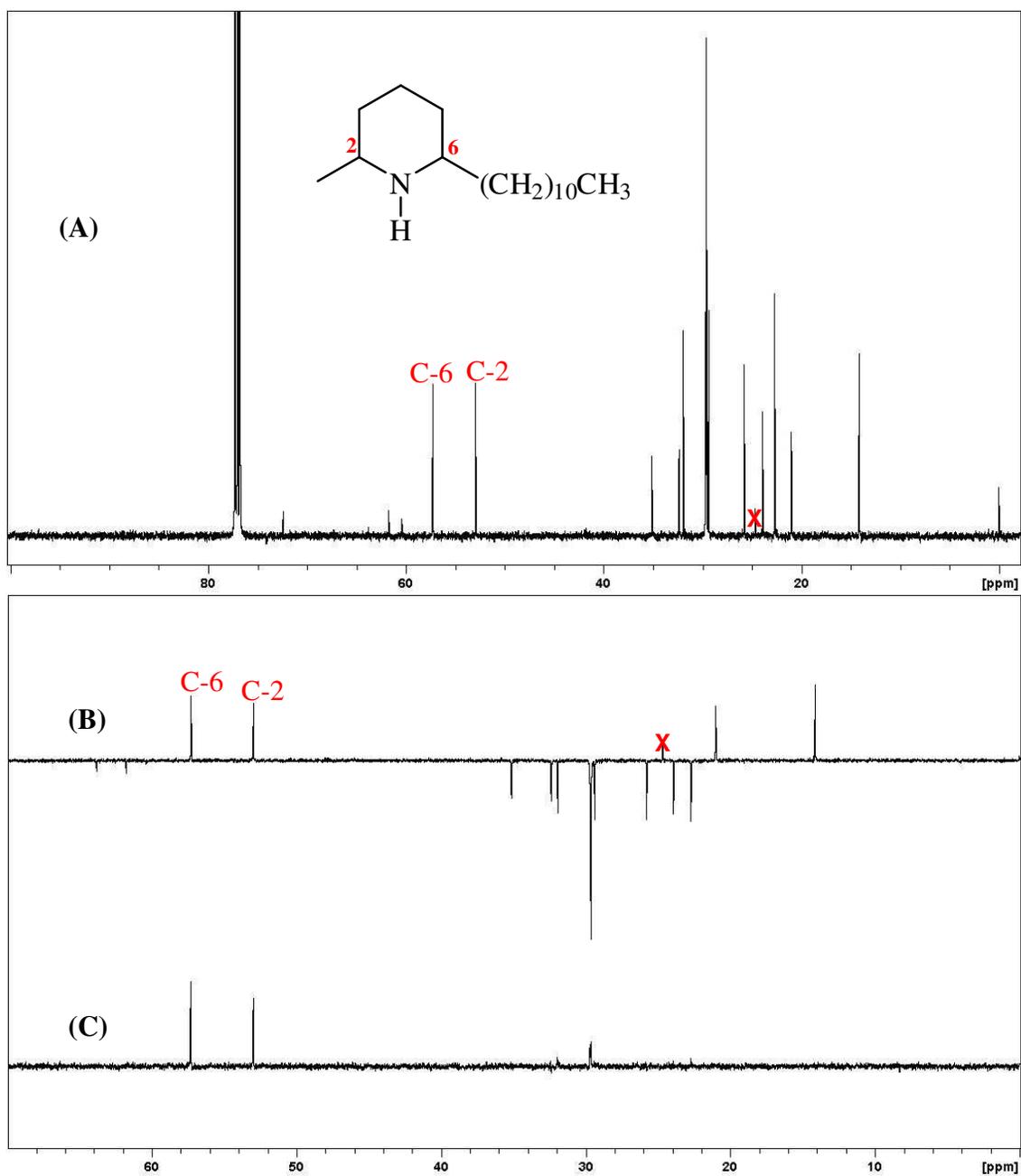
**Figura A43.** Espectro de massas (70 eV) da ( $\pm$ )-*cis*-2-metil-6-undecilpiperidina, mesmo espectro de massas para a ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidina.



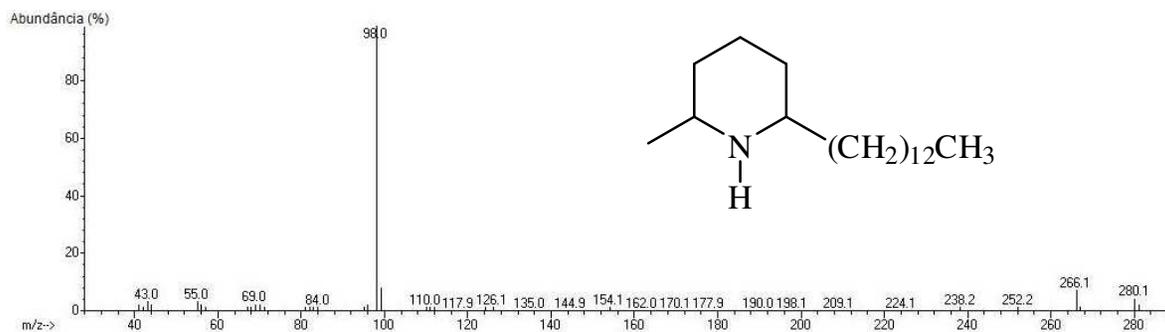
**Figura A44.** Espectro no infravermelho da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas.



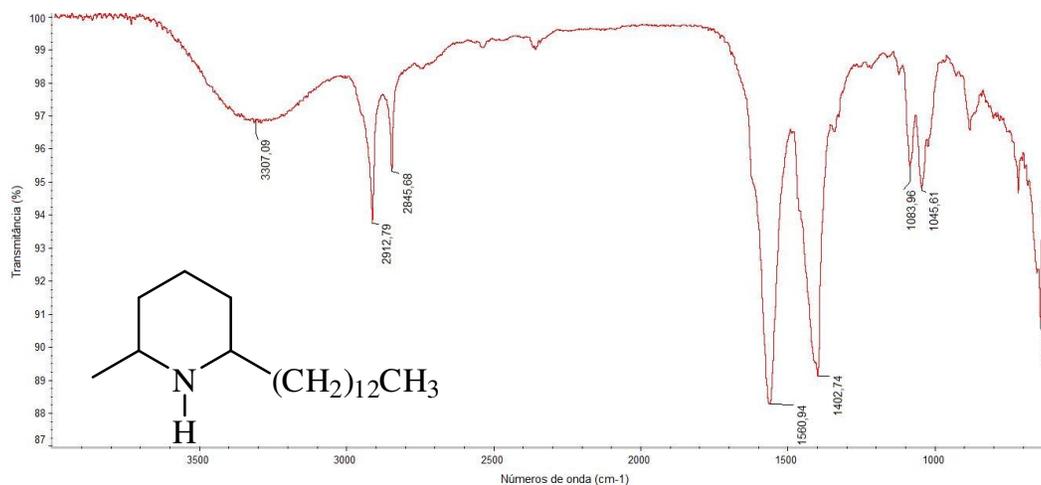
**Figura A45.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (499,87 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas.



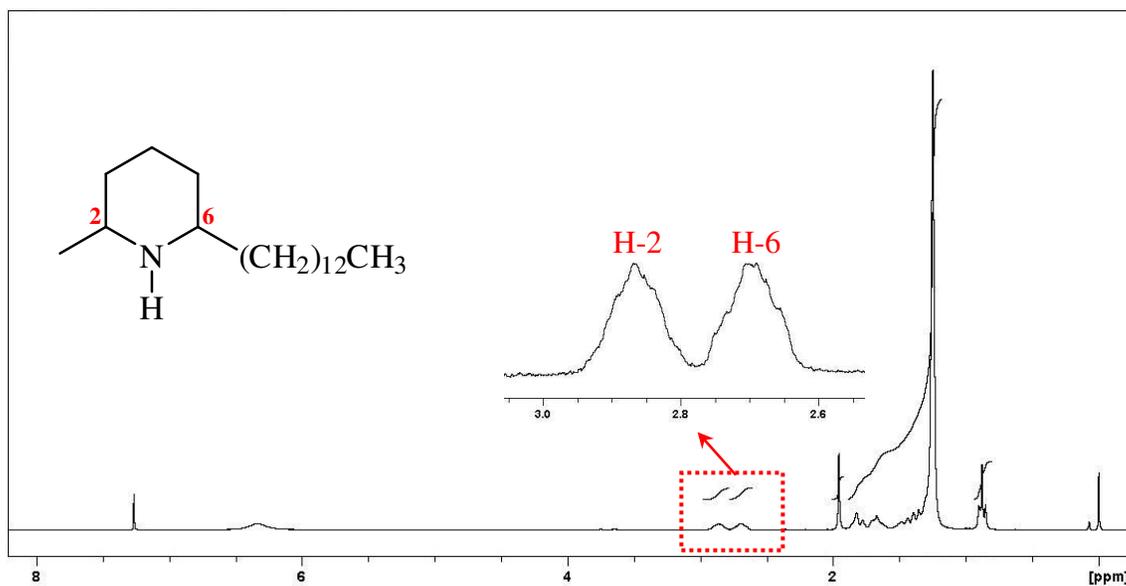
**Figura A46.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125,69 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



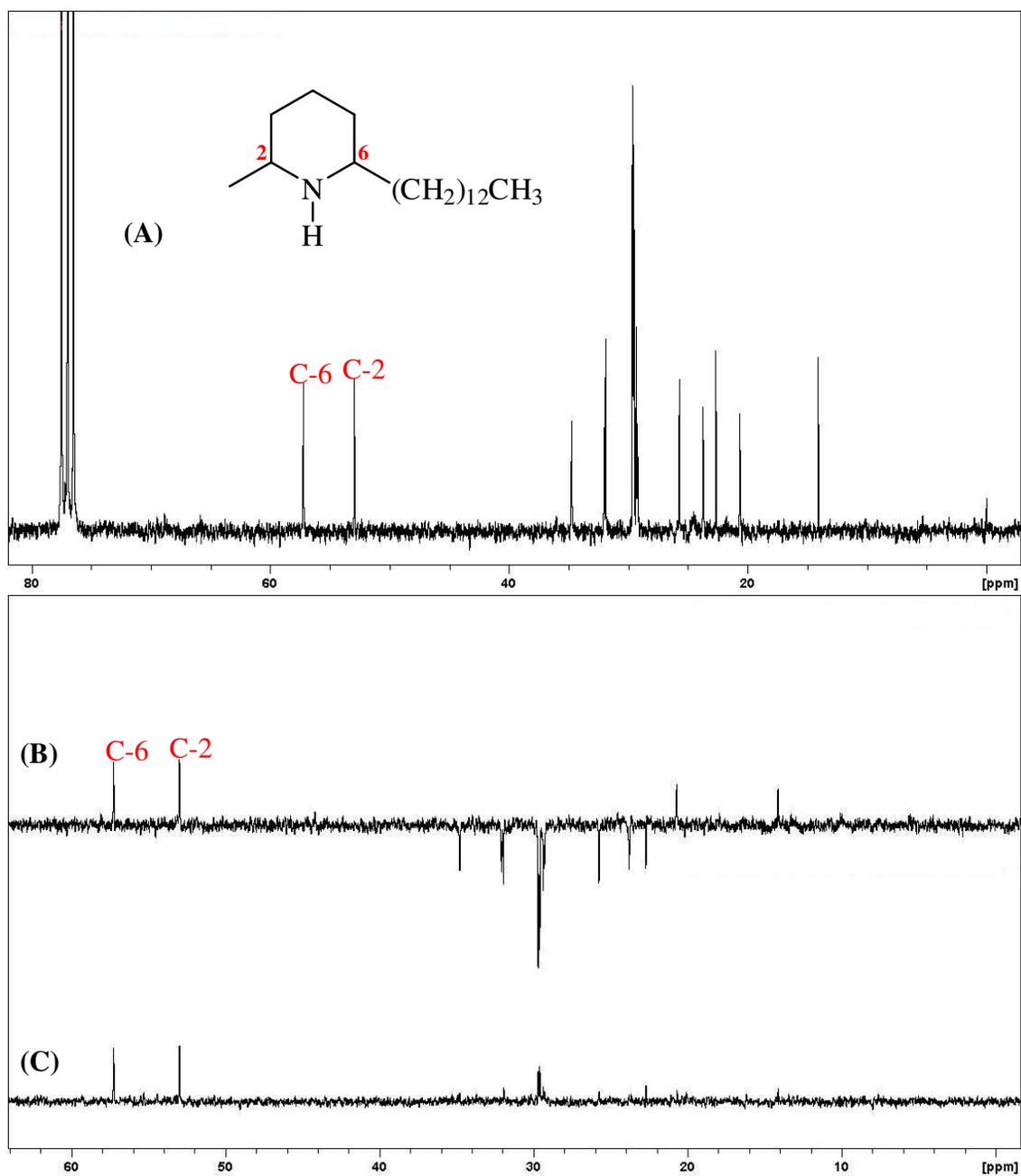
**Figura A47.** Espectro de massas (70 eV) da ( $\pm$ )-*cis*-2-metil-6-tridecilpiperidina, mesmo espectro de massas para a ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidina.



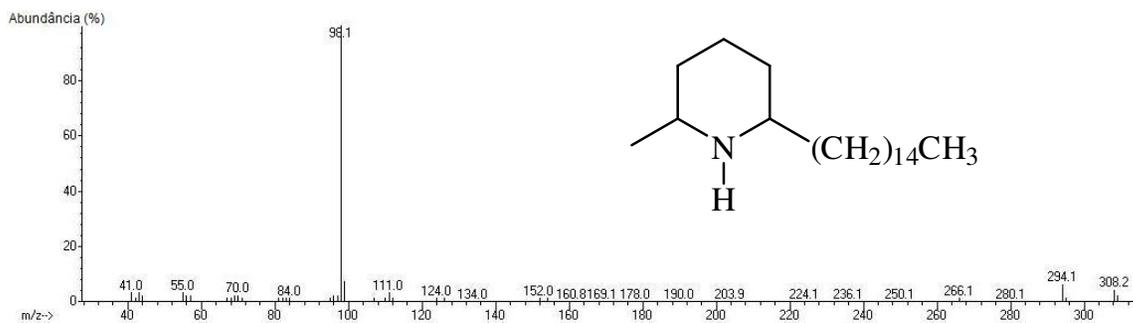
**Figura A48.** Espectro no infravermelho da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas.



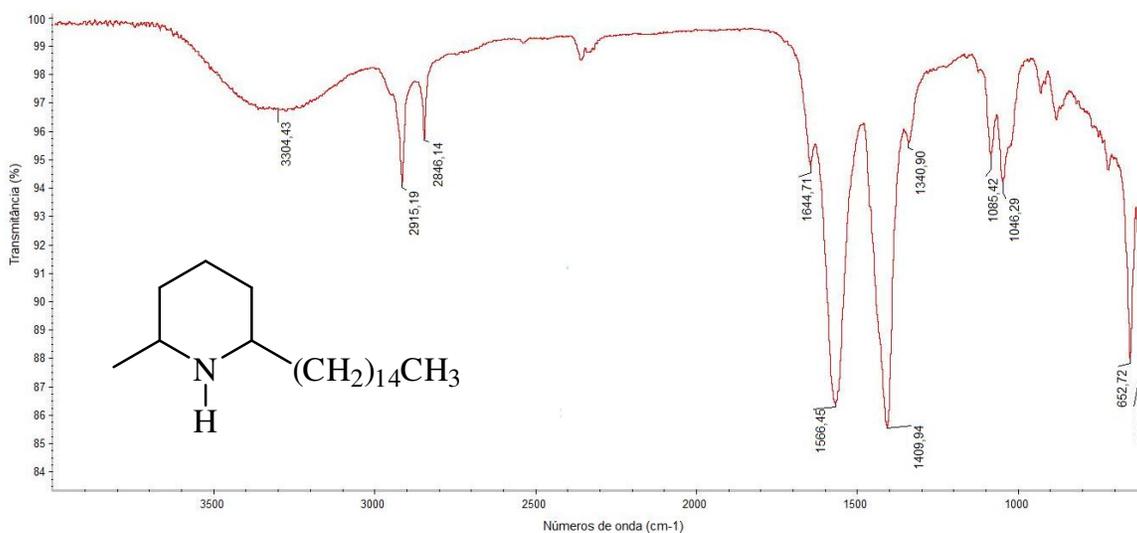
**Figura A49.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (250,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas.



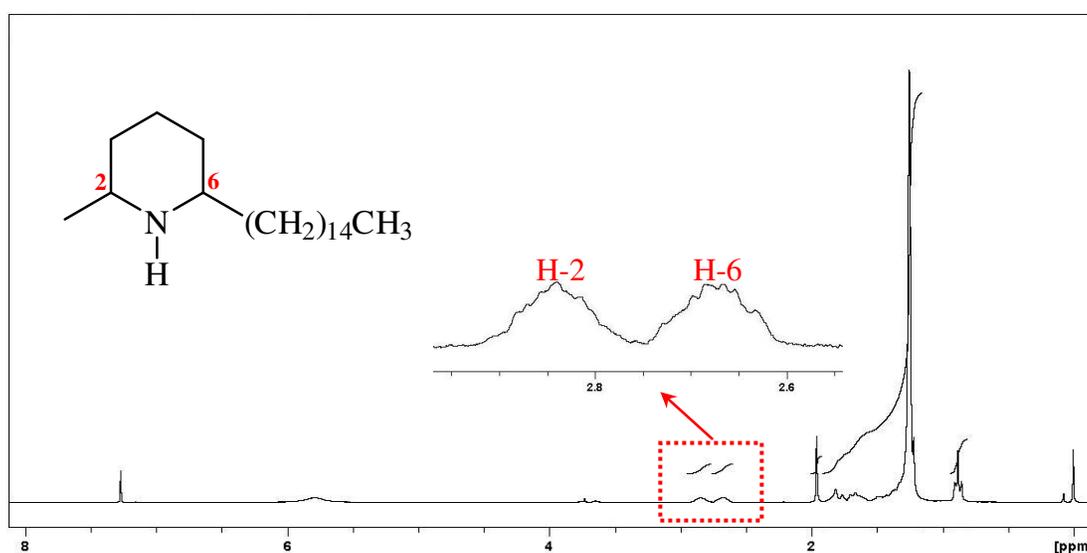
**Figura A50.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (62,89 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-tridecilpiperidinas: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



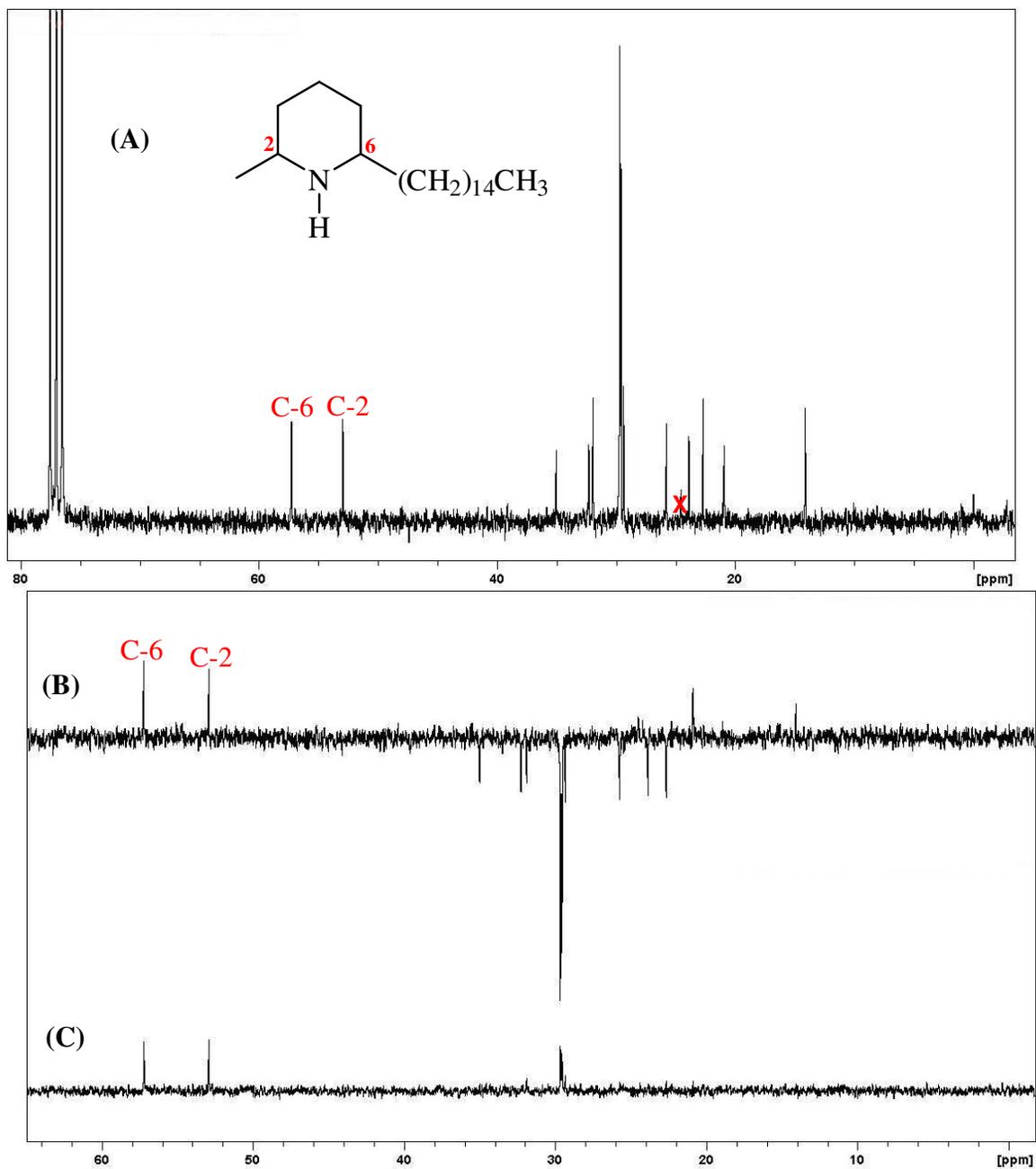
**Figura A51.** Espectro de massas (70 eV) da ( $\pm$ )-*cis*-2-metil-6-pentadecilpiperidina, mesmo espectro de massas para a ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidina.



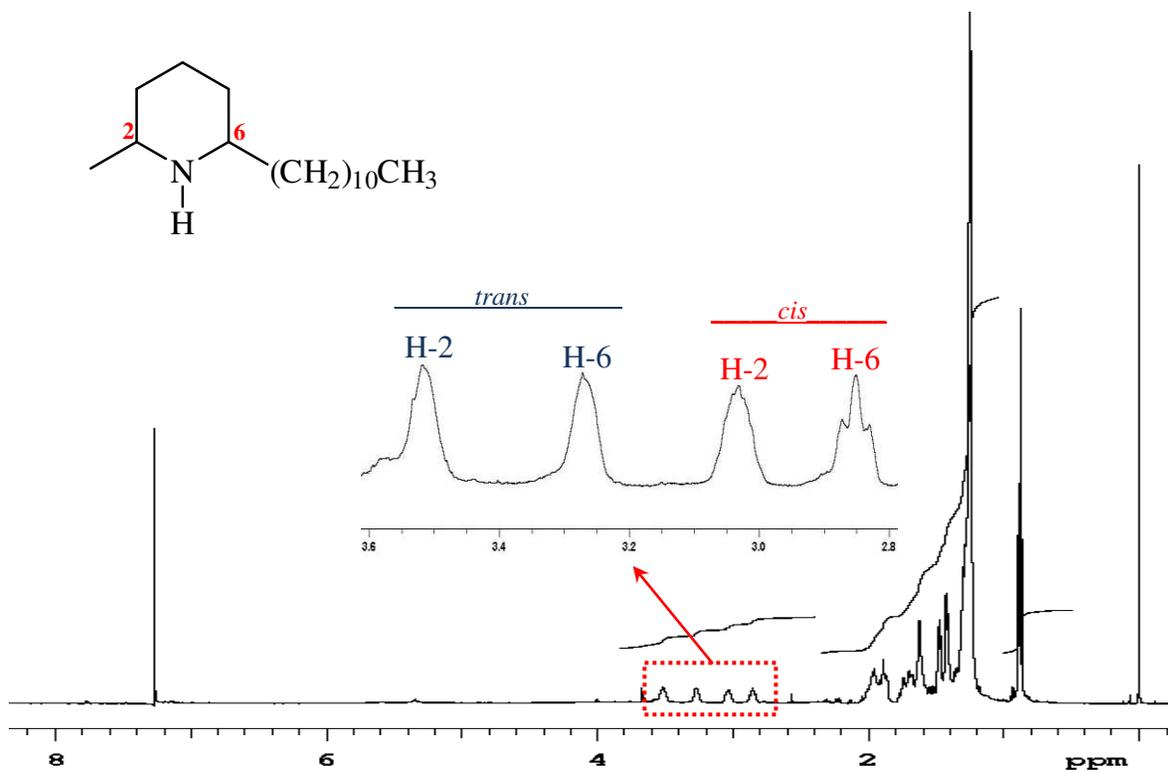
**Figura A52.** Espectro no infravermelho da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas.



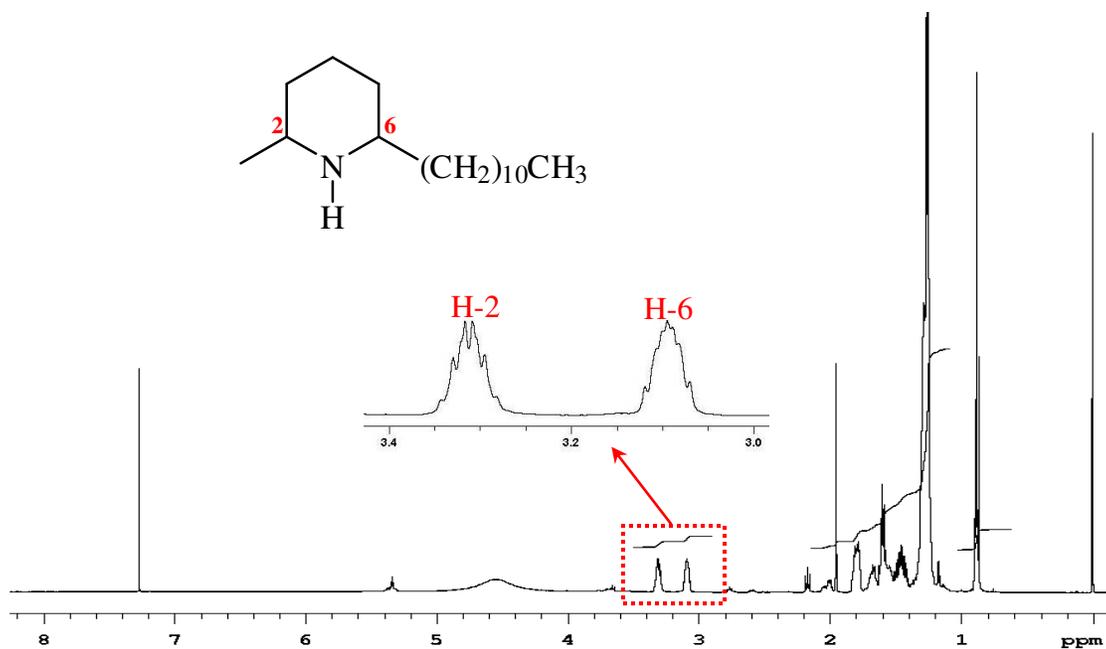
**Figura A53.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (250,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )-*cis*- ou ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas.



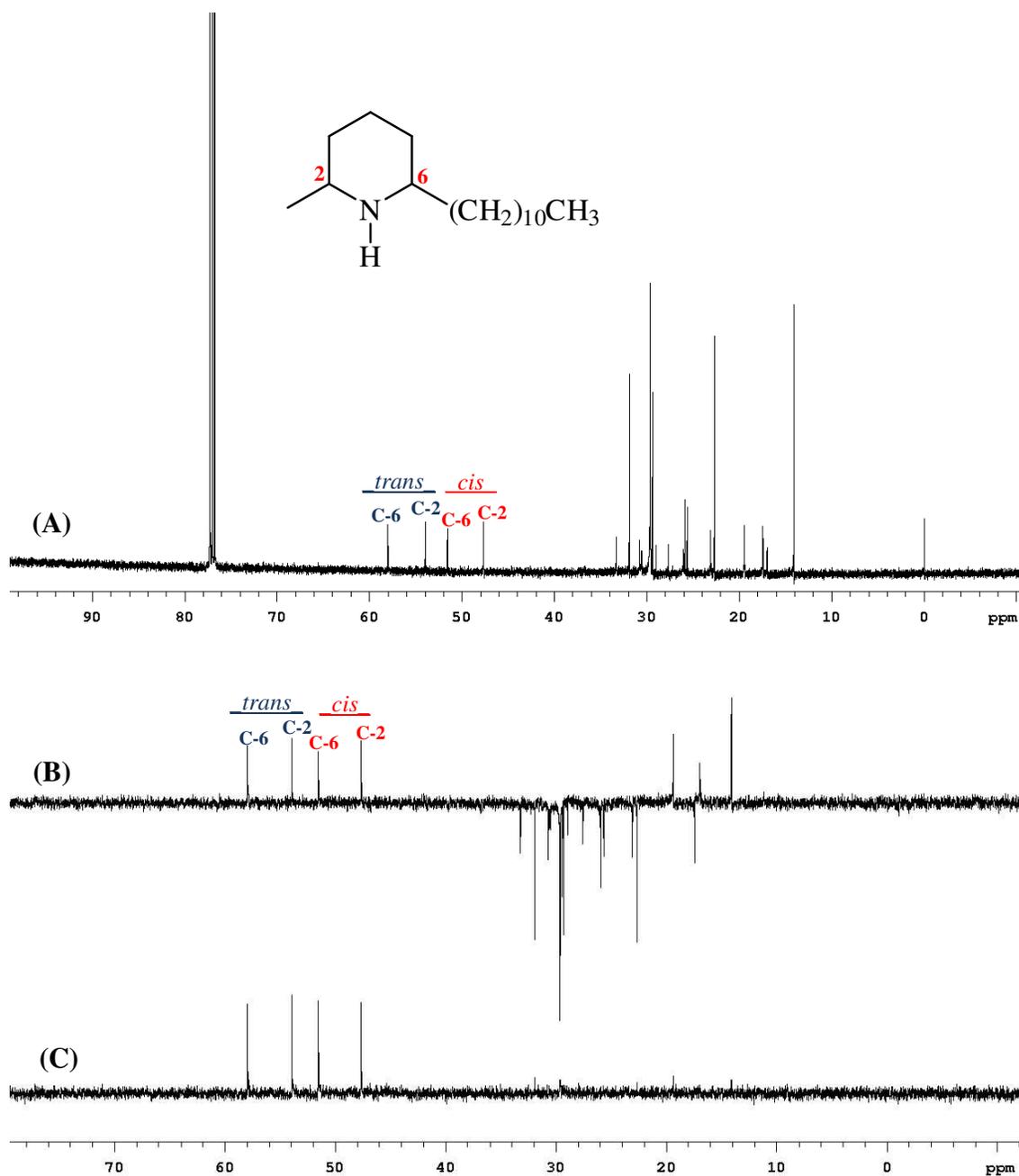
**Figura A54.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (62,89 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da ( $\pm$ )-*cis*- e ( $\pm$ )-*trans*-2-metil-6-pentadecilpiperidinas: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



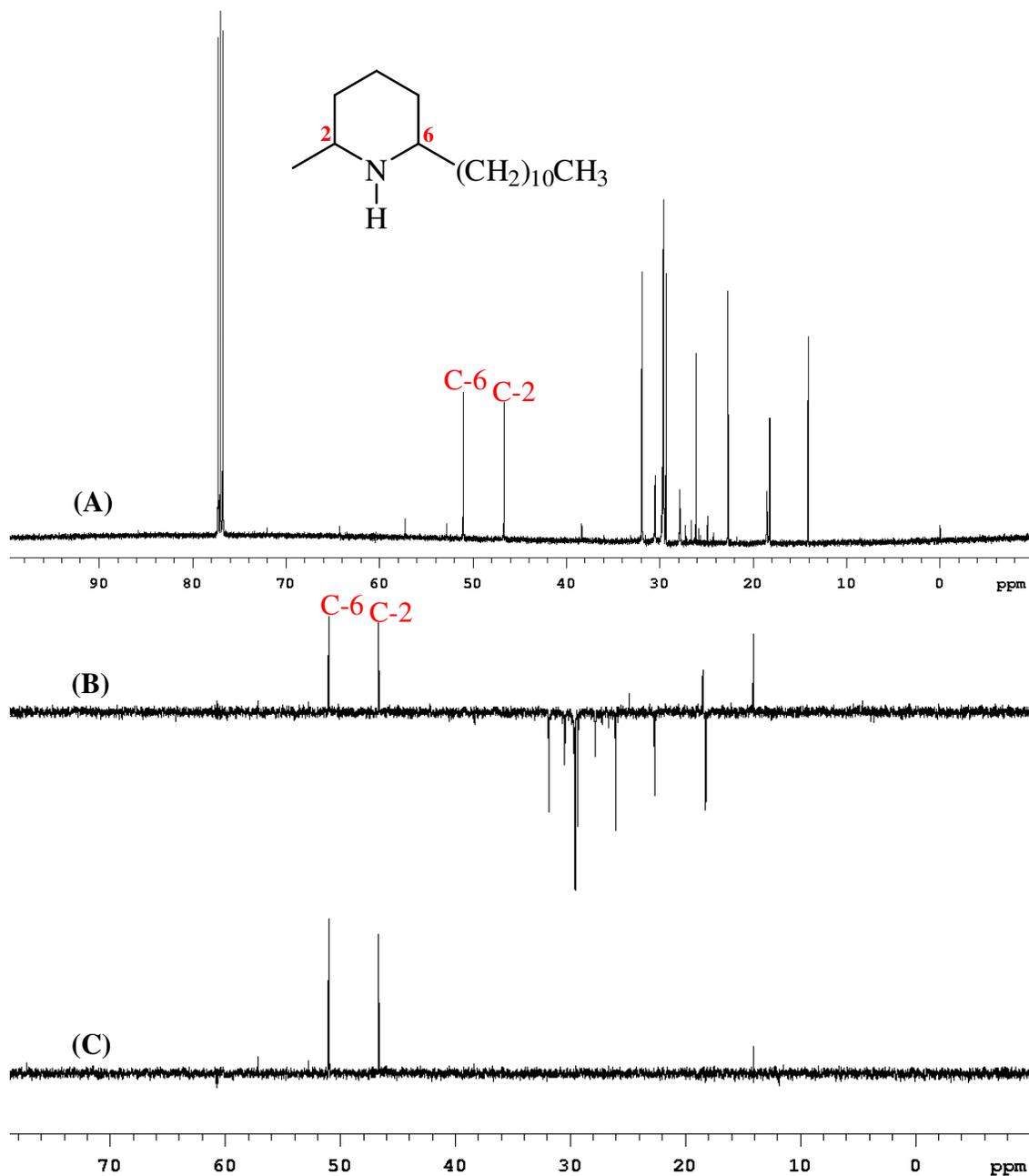
**Figura A55.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (499,88 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas do veneno das rainhas de *Solenopsis saevissima* do ninho 3.



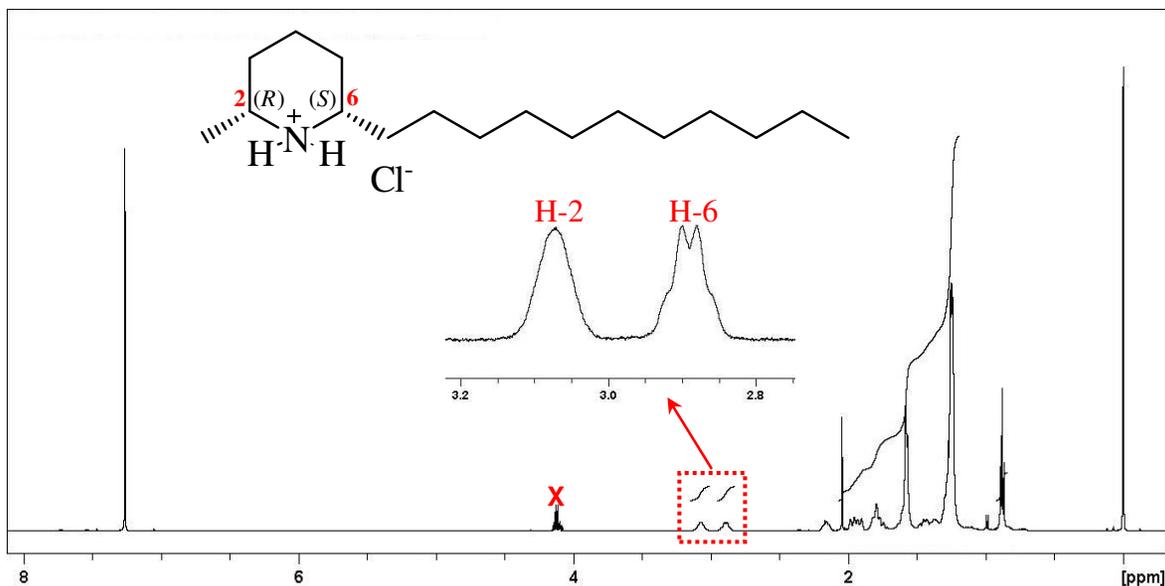
**Figura A56.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (499,88 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) da *trans*-2-metil-6-undecilpiperidina do veneno das operárias pequenas de *Solenopsis saevissima* do ninho 3.



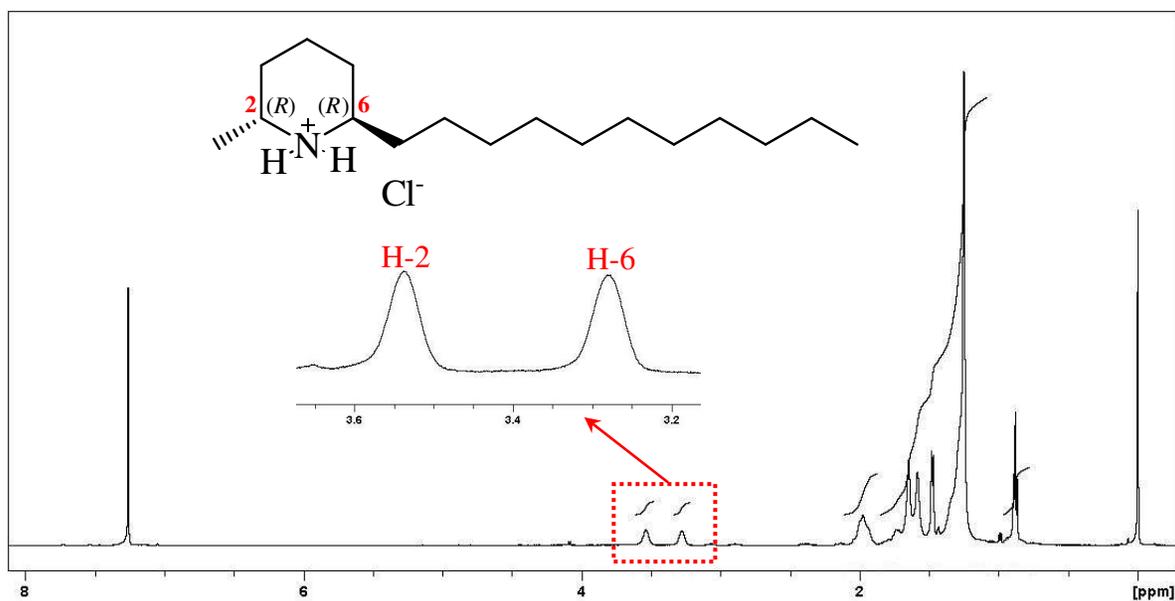
**Figura A57.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125,71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da *cis*- e *trans*-2-metil-6-undecilpiperidinas do veneno das rainhas de *Solenopsis saevissima* do ninho 3: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



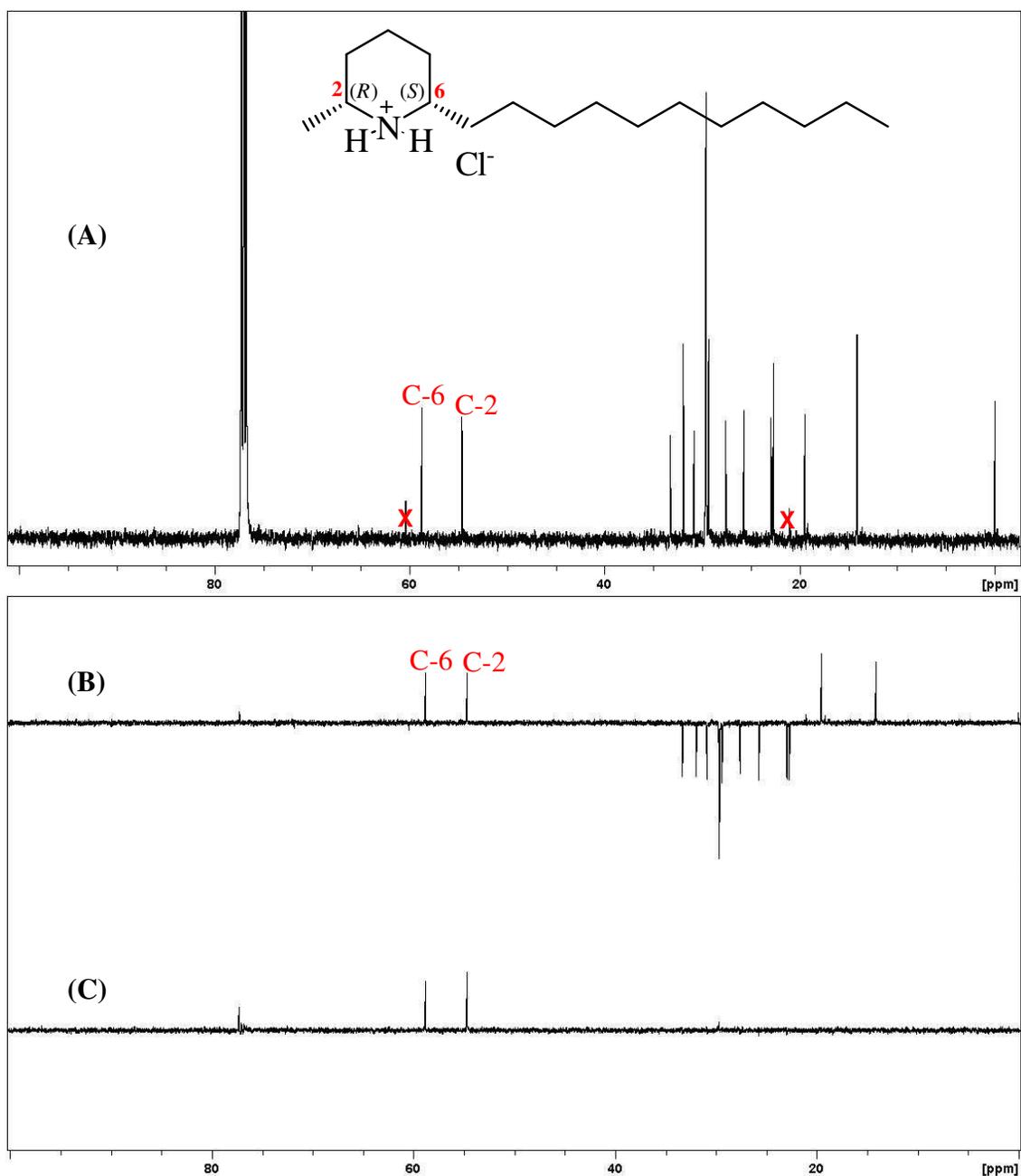
**Figura A58.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125,71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) da *trans*-2-metil-6-undecilpiperidina do veneno das operárias pequenas de *Solenopsis saevissima* do ninho 3: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



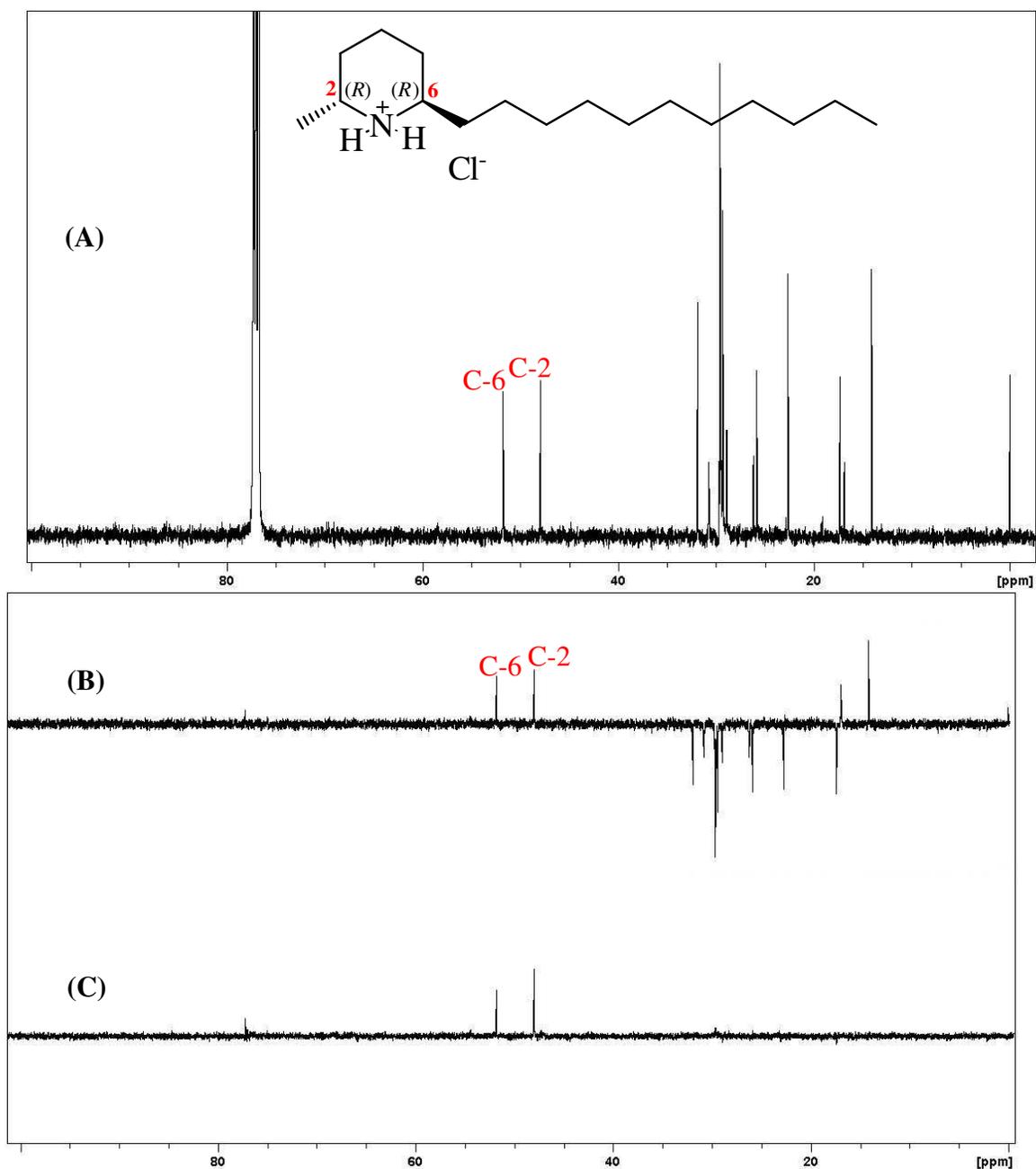
**Figura A59.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (499,87 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) do hidrocloreto da (2*R*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina isolada do veneno das rainhas de *Solenopsis saevissima* dos ninhos 3-4.



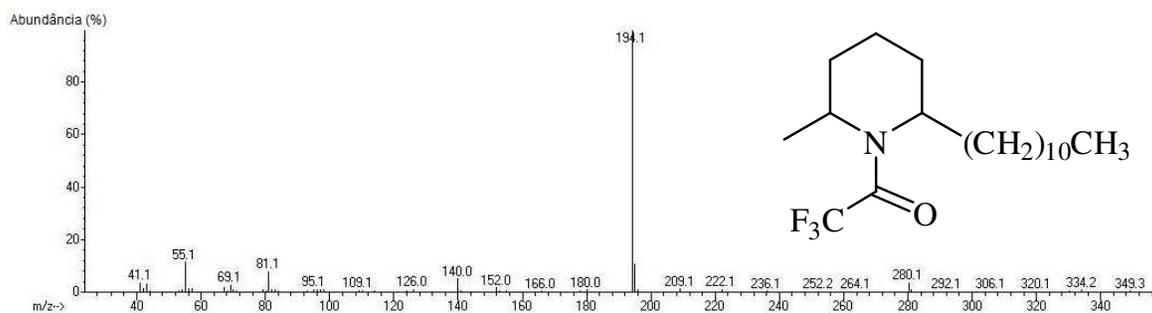
**Figura A60.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (499,87 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) do hidrocloreto da (2*R*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina isolada do veneno das rainhas de *Solenopsis saevissima* dos ninhos 3-4.



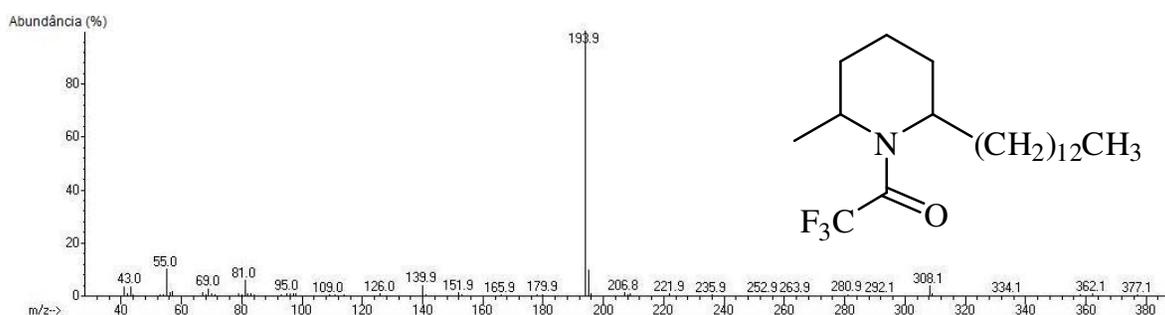
**Figura A61.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125,69 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) do hidrocloreto da (2*R*,6*S*)-2-metil-6-undecilpiperidina isolada do veneno das rainhas de *Solenopsis saevissima* dos ninhos 3-4: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



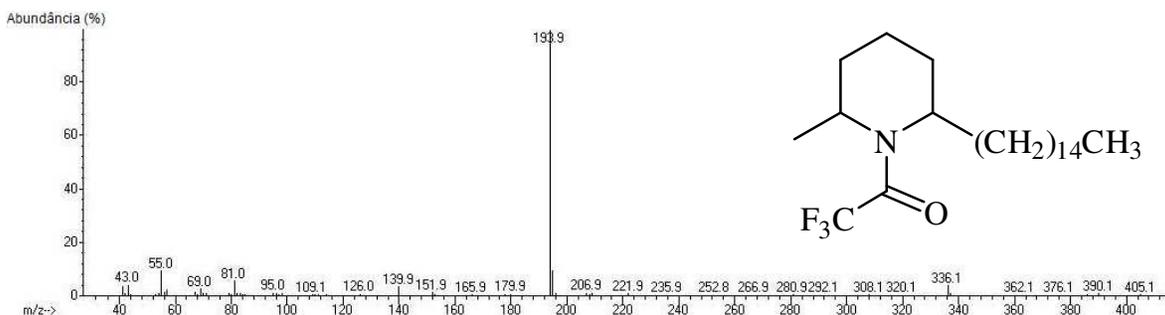
**Figura A62.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125,69 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) do hidrocloreto da (2*R*,6*R*)-2-metil-6-undecilpiperidina isolada do veneno das rainhas de *Solenopsis saevissima* dos ninhos 3-4: A) carbono desacoplado, B) DEPT-135 e C) DEPT-90.



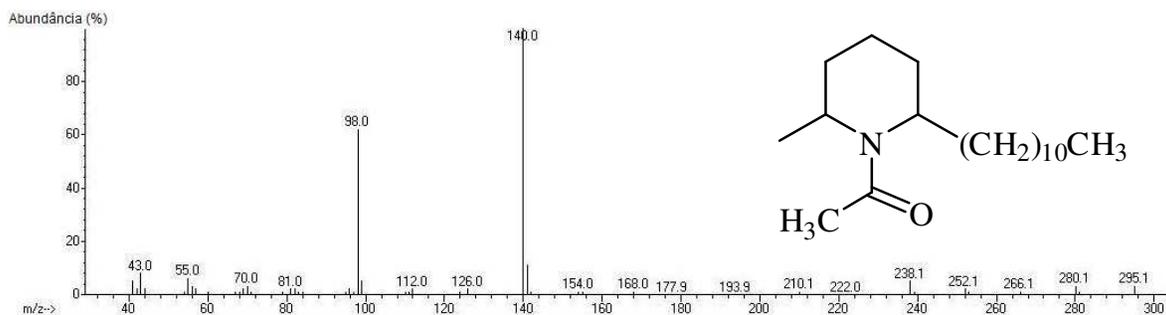
**Figura A63.** Espectro de massas (70 eV) da trifluoroacetamida da (±)-*cis*-2-metil-6-undecilpiperidina, mesmo espectro para a (±)-*trans*.



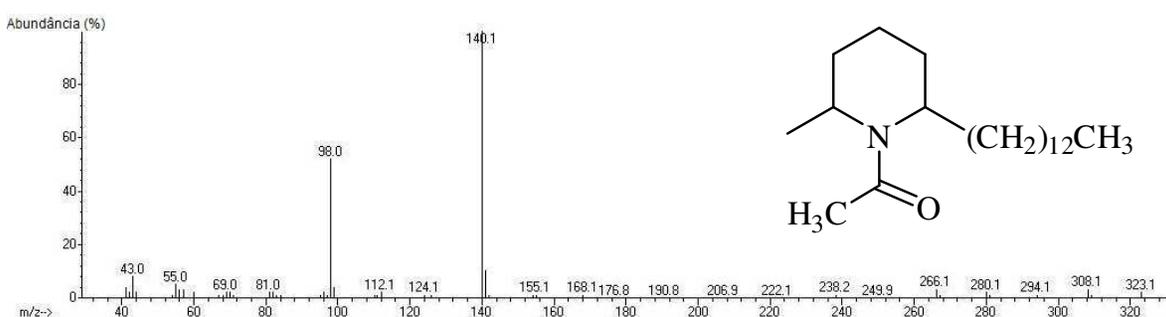
**Figura A64.** Espectro de massas (70 eV) da trifluoroacetamida da (±)-*cis*-2-metil-6-tridecilpiperidina, mesmo espectro para a (±)-*trans*.



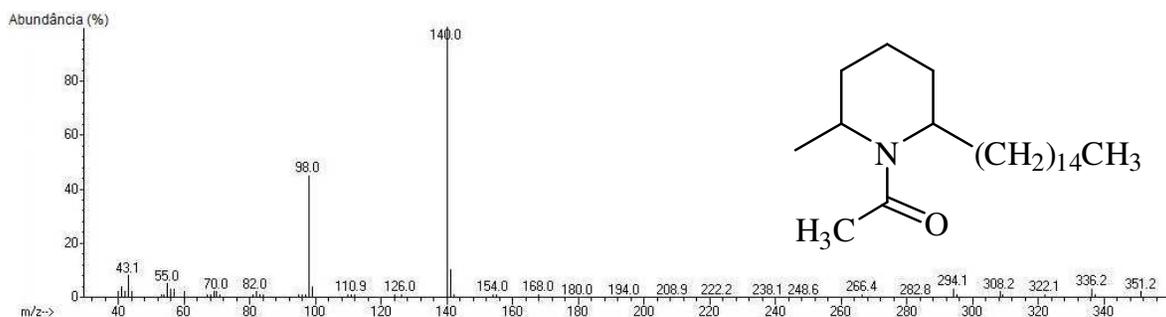
**Figura A65.** Espectro de massas (70 eV) da trifluoroacetamida da (±)-*cis*-2-metil-6-pentadecilpiperidina, mesmo espectro para a (±)-*trans*.



**Figura A66.** Espectro de massas (70 eV) da acetamida da ( $\pm$ )-*cis*-2-metil-6-undecilpiperidina, mesmo espectro para a ( $\pm$ )-*trans*.



**Figura A67.** Espectro de massas (70 eV) da acetamida da ( $\pm$ )-*cis*-2-metil-6-tridecilpiperidina, mesmo espectro para a ( $\pm$ )-*trans*.



**Figura A68.** Espectro de massas (70 eV) da acetamida da ( $\pm$ )-*cis*-2-metil-6-pentadecilpiperidina, mesmo espectro para a ( $\pm$ )-*trans*.